

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 6 月 17 日 (17.06.2004)

PCT

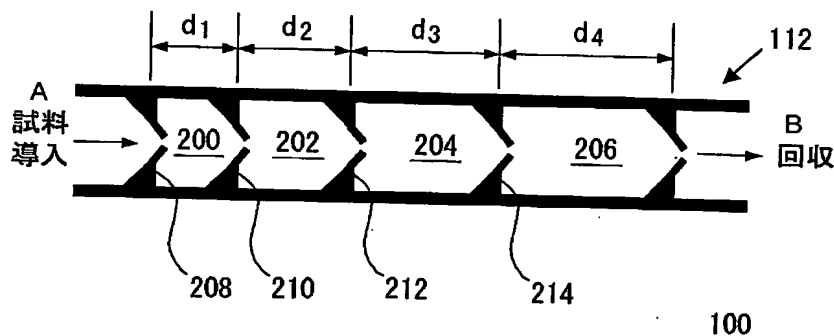
(10) 国際公開番号
WO 2004/051232 A1

- (51) 国際特許分類⁷: G01N 1/16, 27/26, 27/62, 30/60, 30/72, 33/48, 35/08, 37/00, B01D 57/00, 57/02, H01J 49/26
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/015339
- (22) 国際出願日: 2003 年 12 月 1 日 (01.12.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2002-349282
2002 年 11 月 29 日 (29.11.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本電気株式会社 (NEC CORPORATION) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 麻生川 稔 (ASO-GAWA, Minoru) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 馬場 雅和 (BABA, Masakazu) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 川浦 久雄 (KAWAURA, Hisao) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 佐野 亨 (SANO, Toru) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 飯田 一浩 (IIDA, Kazuhiro) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 井口 憲幸 (IGUCHI, Noriyuki) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 染谷 浩子 (SOMEYA, Hiroko) [JP/JP]; 〒108-8001 東京都港

[続葉有]

(54) Title: SEPARATING APPARATUS, SEPARATING METHOD, AND MASS ANALYZING SYSTEM

(54) 発明の名称: 分離装置、分離方法、および質量分析システム

A...INTRODUCTION OF SPECIMEN
B...RECOVERY

(57) Abstract: A separating apparatus (100) capable of accurately separating separated components in high concentrations from a specimen containing the separated components, comprising a separation flow passage (112) for moving the specimen containing the separated components therein and gateway parts (208) to (214) dividing the separation flow passage (112) into a plurality of chambers (200) to (206). The separating apparatus (100) further comprises an unshown external force providing means, and the external force providing means provides an external force to the separated components to move these components in the flow passage. Also, the external force providing means is formed so as to repeatedly perform, in order, a first external force application pattern providing force in the opposite direction of the forward direction of the flow passage and a second external force application pattern providing the external force in the forward direction of the flow passage. Thus, the separated components can be divided in any of these chambers.

(57) 要約: 被分離成分を含む試料から高濃度で精度よく各成分を分離する。分離装置 100 は、被分離成分を含む試料の移動する流路 112 と、分離用流路 112 を複数の部屋 200 ~ 206 に区画する関門部 208 ~ 214 とを有する。分離装置 100 は、図示していない外力付与手段をさらに有し、外力付与手段

[続葉有]



区芝 五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP).
服部 渉 (HATTORI, Wataru) [JP/JP]; 〒108-8001 東京
都 港区芝 五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo
(JP).

(74) 代理人: 速水 進治 (HAYAMI, Shinji); 〒150-0021 東京
都 渋谷区恵比寿西 2-17-8 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CA, CN, US.

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

は、被分離成分に外力を付与し流路中を移動させる。また、外力付与手段は、流路の進行方向に外力を付与する第一の外力印加パターンと、流路の進行方向と反対方向に外力を付与する第二の外力印加パターンとを順次繰り返し実行するように構成される。これにより、被分離成分がいずれかの室に分画される。

明 細 書

分離装置、分離方法、および質量分析システム

5 技術分野

本発明は、試料中に含まれる複数の成分から特定の成分を分離する分離装置および分離方法、ならびに質量分析装置に関する。

背景技術

- 10 従来、プロテオミクス研究やゲノミクス研究では、タンパク質やペプチド、またはDNA等の核酸断片を電気泳動により分離し、ゲルから回収して分析を行っている。マイクロチップを用いた電気泳動では、図22(a)に示すように、基板300上に投入用流路302および分離用流路304が十字型に形成される。図22(b)に示すように、まず液溜め306から試料を投入し、図中横方向に電界をかけて投入された試料を右方向に移動せしめ、ついで図22(c)に示すように、図中縦方向に電界をかけることにより試料を分離用流路に流し、これにより移動距離の異なる成分を分離することができる。
- 15

特許文献1 特開2002-131280号公報

20

発明の開示

- しかし、投入用流路から分離用流路に導入される試料の量が少ないと、分離の過程で目的成分を微量しか得ることができない。高濃度の目的成分を得ることができないと、分析を精度よく行えないという問題がある。一方、投入用流路の幅を広く形成して分離用流路に導入される試料の量を多くすると、分離用流路中で流れる試料のバンド幅が広くなり、分解能が悪くなって精度よく分離ができなくなってしまう。また、投入用流路の幅が狭いまま高濃度の試料を導入した場合も、試料自体がアグリゲーションをおこしてしま
- 25

い、分解能が悪くなり、良好な分離が行えない。

本発明は上記事情に鑑みなされたものであって、試料を、簡単な操作で効率よく分離する技術を提供することを目的とする。本発明は、試料を精度よく分離するとともに濃縮して回収する技術を提供することを目的とする。

- 5 本発明によれば、被分離成分を含む試料の移動する流路と、流路中に設けられ、被分離成分の逆流を抑制する一または二以上の逆流抑制弁と、逆流抑制弁により区画された複数の室と、被分離成分に外力を付与し流路中を移動せしめる外力付与手段と、を備え、外力付与手段は、被分離成分に流路の進行方向に外力を付与する第一の外力印加パターンと、被分離成分に流路の進行方向と反対方向に外力を付与する第二の外力印加パターンとを順次繰り返し実行し、被分離成分をいずれかの室に分画する機能を備えたことを特徴とする分離装置が提供される。

- 15 このようにすることにより、被分離成分がそれぞれ固有の速度で流路中を移動し、第一の外力印加パターンを実行した際に一の室を通過した成分は第二の外力印加パターンを実行した際にも流路の進行方向と反対方向の室への逆流が抑制されるので、各被分離成分をそれぞれ固有の移動距離に応じていずれかの室に分離することができる。ここで、各被分離成分の移動距離は、各成分の特性、外力の大きさ、および外力の印加時間に応じて定まる。これにより、被分離成分を分離するとともに濃縮することができる。なお、こ
20 で、流路の進行方向に外力を付与するとは、各室において、流路の進行方向に試料が移動するような力を付与することをいう。また、流路の進行方向と反対方向に外力を付与するとは、各室において、流路の進行方向と反対方向に試料が移動するような力を付与することをいう。

- 25 本発明の分離装置において、流路は、一直線上に延在して形成することができる。

このようにすれば、外力の印加方向が一方向とその反対方向のみとすることができるので、構成を簡略化することができる。さらに、各成分を各室に分離後、一方向に外力を付与することにより、各室に分離された試料を流路

の下流側で順次回収することができる。

本発明の分離装置において、逆流抑制弁は、各逆流抑制弁を通過して流路の下流側に移動した被分離成分の少なくとも一部の逆流を阻止するように形成することができる。

- 5 ここで、逆流抑制弁は、それ自体が試料中の被分離成分に電氣的な影響を与えないような材料により構成されるのが好ましい。逆流抑制弁は、たとえば被分離成分が通過できない程度の間隔で配置された複数の柱状体を用いることができる。また、逆流抑制弁の材料は、上記したように、試料中の被分離成分に電氣的な影響を与えないような材料であれば、どのようなもので
- 10 あってもよいが、たとえば導電性部材とすることができる。ここで、逆流抑制弁は弁として機能すればよく、様々な構造および形状を有するように形成することができる。また、流路の下流側の室に移動した成分が上流側の室に逆流したとしても、第一の外力印加パターンおよび第二の外力印加パターンを繰り返し実行することにより、各成分は固有の移動距離に応じて等比級数的に下流側の室に移動するので、最終的には各成分をそれぞれ各室に分離す
- 15 ることができる、濃縮することができる。

- 本発明の分離装置において、外力付与手段は、流路の両端に設けられた複数の電極を含み、電極間に印加する電圧の方向を切り替えることにより、第一の外力印加パターンおよび第二の外力印加パターンを実行する機能を備
- 20 えることができる。ここで、電極は流路の両端に設けられたものに限らず、各室において、流路の進行方向とその反対方向に試料が移動できるようになっていれば、どのような配置とすることもできる。

- 本発明によれば、被分離成分を含む試料の移動する流路と、流路を移動する被分離成分を当該流路の試料進行方向において堰き止める堰き止め部と、
- 25 隣接する堰き止め部によって区画された複数の室と、被分離成分に外力を付与し流路中を移動せしめる外力付与手段と、を備え、外力付与手段は、各室の流路の試料進行方向の外力成分がそれぞれ異なる複数の外力印加パターンを順次実行するように構成されており、複数の外力印加パターンを順次実

行し、被分離成分をいずれかの室に分画する機能を備えたことを特徴とする分離装置が提供される。

このようにすることにより、流路の試料進行方向の外力成分が正となる外力印加パターンが実行された室においては、その室の長さに応じて被分離成分がそれぞれ固有の速度で流路の試料進行方向へ移動するとともに、流路の試料進行方向の外力成分が負となる外力印加パターンが実行された室においては、被分離成分はその室内で流路の試料進行方向と逆の方向に移動する。これにより、堰き止め部を通過した成分は次のパターンの印加により次の室に移動することができるので、複数の外力印加パターンを順次繰り返すことにより、各成分はそれぞれ固有の移動距離に応じていずれかの室に分離される。これにより、被分離成分を分離するとともに濃縮することができる。

本発明の分離装置において、外力付与手段は、各室における被分離成分に印加される外力の大きさが略等しくなるように外力を付与する構成とすることができる。

ここで、外力の大きさが略等しくなるとは、本来同じ速度で移動する被分離成分は、どの室にあっても同じ速度で移動するように外力が付与されるという意味である。たとえば、各室の両端に電極を設けて電圧を印加することにより外力を付与する場合、外力付与手段は、各室の長さを考慮してそれぞれの電極に印加される電位を設定するように構成される。ここで、電極は各室の両端に設けられたものに限らず、各室において、流路の進行方向とその反対方向に試料が移動できるようになっていれば、どのような配置とすることもできる。

本発明の分離装置において、外力印加パターンは、流路の試料進行方向に沿って外力成分が正となる室と外力成分が負となる室とが交互に現れるように外力を付与するパターンとすることができる。

このようにすれば、これにより、堰き止め部を通過した成分は次のパターンの印加により次の室に移動してその室内を移動していくので、複数の外力印加パターンを順次繰り返すことにより、各成分はそれぞれ固有の移動距離

に応じていずれかの室に分離される。これにより、被分離成分を分離するとともに濃縮することができる。

本発明の分離装置において、流路は屈曲形状を有し、流路の屈曲箇所を堰き止め部とするように形成することができる。

5 これにより、屈曲箇所に達した成分は次のパターンの印加により次の室に移動してその室内を移動していくので、複数の外力印加パターンを順次繰り返すことにより、各成分はそれぞれ固有の移動距離に応じていずれかの室に分離される。これにより、被分離成分を分離するとともに濃縮することができる。

10 本発明の分離装置において、屈曲箇所は実質的に直角に形成することができる。

 このようにすれば、屈曲箇所に達した成分のほとんど全てが次のパターンの印加により次の室に移動してその室内を移動していくので、外力印加パターンの繰り返し回数を少なくしても効率よく各被分離成分の分離および濃縮をおこなうことができる。

15 本発明の分離装置において、各室に分画された被分離成分を堰き止め部から回収する回収部が設けられてよく、外力付与手段は、回収部と堰き止め部との間にも外力を付与し、試料の分画時には、堰き止め部の方向に試料が移動するように外力を付与し、試料の回収時には回収部の方向に試料が移動する

20 るように外力を付与することができる。

 このようにすれば、各室に分離された被分離成分を流路下流の回収先まで移動させることなく、それぞれの室に設けられた堰き止め部から各被分離成分を回収することができる。

 本発明の分離装置において、流路の進行方向に沿う複数の室の長さが、当

25 該流路の下流側に向かうにつれて長くすることができる。

 このようにすれば、移動速度の速い成分ほど流路の進行方向の先に進行してそれぞれ固有の移動距離に応じていずれかの室に分離することができ、その室で濃縮することができる。

本発明の分離装置において、各外力印加パターンにおいて、流路の試料進行方向に沿って、流路の下流側に向かう室ほど小さい外力が印加されるように構成することができる。

このようにすれば、移動速度の速い成分は流路の進行方向の先に進行する
5 が、進行方向の先に進むほど、各室から次の室に移動するための各成分の移動距離が短くなり、精度よく分離を行うことができるようになる。

本発明の分離装置において、各被分離成分は、外力の付与による移動距離に応じていずれかの室にそれぞれ分画することができる。

本発明の分離装置において、流路の下流側に設けられた回収部をさらに含
10 むことができ、外力付与手段は、各印加パターンにおける、外力を付与する時間を徐々に長くして、回収部から被分離成分のフラクションが順次得られるように構成することができる。

本発明の分離装置において、外力付与手段は、各外力印加パターンにおける、外力を付与する時間よりも長い時間、流路の進行方向に外力を付与する
15 回収用外力印加パターンを実行するように構成することができ、当該回収用外力印加パターンの実行により、流路の最も下流に位置する室から被分離成分が回収されるように構成することができる。ここで、回収用外力印加パターンにおける外力の印加時間を、流路の最も下流に位置する室の長さをその上流側に位置する室の長さで除した数値を外力を付与する時間に乗じた時間
20 間とすると、上流側の室にあるものを回収用の流路に導くことができる。また、外力の印加時間を上記の時間以下に調整することより、上流側の室にあるもののうち、比較的速いものだけを回収用の流路に導くことができる。このようにすれば、流路の最も下流に位置する室内に滞在していた成分の中でも、移動速度の速い成分とそれよりも移動速度の遅い成分とを分離すること
25 ができるので、各成分を濃縮した状態で、精度よく分離して回収することができる。

本発明によれば、以上のいずれかの分離装置を用いて試料中の成分を分離する方法であって、流路に試料を導入する工程と、試料が一の室において流

路の下流側に移動するようにいずれかの外力印加パターンを実行する第一の工程と、試料が一の室において流路の上流側に移動するようにいずれかの外力印加パターンを実行する第二の工程と、を順次繰り返し行うことを特徴とする分離方法が提供される。

- 5 本発明の分離方法において、第一の工程における外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間は毎回一定とすることができる。

本発明の分離方法において、第一工程における外力印加パターンおよび第二の工程における外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間を毎回一定とすることができる。

- 10 本発明の分離方法において、第二の工程における外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間は、第一工程における外力印加パターンにおいて外力を付与する時間と実質的に同じ時間またはそれ以上の時間とすることができる。

- 15 本発明の分離方法において、第一の工程と第二の工程と、を繰り返し実行した後、再び試料を導入する工程を行うことができ、同様の処理を繰り返すことができる。

- 20 本発明の分離方法において、第一の工程における外力印加パターンおよび第二の工程における外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間を毎回一定として第一の工程と第二の工程と、を繰り返し実行した後、少なくとも第一の工程における外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間を長くして同様の処理を繰り返すことができる。

- 25 本発明の分離方法において、第一の工程の外力印加パターンにおいて付与される外力の付与時間よりも長い時間、試料が流路の下流側に移動する方向に外力を付与する回収用外力印加パターンを実行する工程をさらに含むことができる。

本発明によれば、主流路および該主流路に分岐して形成された副流路を有し、被分離成分を含む試料の移動する流路と、被分離成分に外力を付与し流路中を移動せしめる外力付与手段と、を備え、外力付与手段は、流路に対す

る外力の付与方向が異なる複数の外力印加パターンを順次実行するように構成されており、複数の外力印加パターンの実行により、被分離成分がいずれかの副流路に分画されるように構成されたことを特徴とする分離装置が提供される。

- 5 このようにすることにより、被分離成分がそれぞれ固有の速度で流路中を移動し、外力の付与方向が異なる外力印加パターンを実行することにより、いずれかの副流路に分離される。これにより、被分離成分を分離するとともに濃縮することができる。

- 10 本発明の分離装置において、主流路は試料導入口を有することができ、副流路は、外力付与手段が試料導入口の方向に外力を付与したときに被分離成分が導入されるように構成することができ、外力付与手段が試料導入口から遠ざかる方向に外力を付与したときに被分離成分が主流路の方向に移動するように構成することができる。

- 15 このようにすれば、主流路を移動した成分が試料導入口の方向に逆流した際に副流路に分離されるので、各成分に固有の移動距離に応じて各成分を副流路に導入することができる。

本発明の分離装置において、主流路は試料導入口を有することができ、副流路の長さは、その副流路が主流路から分岐する点から試料導入口に至る長さに略等しくすることができる。

- 20 このようにすれば、副流路に分離された成分を当該副流路の端部まで移動させた後、試料導入口に新たな試料を導入して、試料導入口からと副流路の端部からと同時に試料を移動させると、同じ移動速度で移動する成分を主流路の分岐点で合流させることができ、試料を濃縮して回収することができる。

- 25 本発明の分離装置において、主流路は試料導入口を有することができ、副流路の長さは、その副流路が主流路から分岐する点から試料導入口に至る長さよりも長くすることができる。

このようにすれば、一端副流路に分離された成分が副流路から流出することなく、副流路中に収容しておくことができるので、副流路において各成分

を濃縮することができる。

本発明の分離装置において、副流路が主流路から分岐する点の上流側近傍に、逆流抑制弁を設けることができる。

このようにすれば、試料が試料導入口から遠ざかる方向に移動して分流路との分岐点を通過した後、逆方向に移動されるとき、試料導入方向への逆流を阻止して副流路に多くの成分を移動させることができるので、効率よく成分を分離および濃縮することができる。

なお、以上で説明した分離装置において、主流路の下流側には、さらに分子量に応じて各成分を分離する分子量分離領域を設けることもできる。これにより、各成分をより精度よく分離することができる。

本発明の分離装置において、各被分離成分は、外力の付与による移動距離に応じていずれかの室にそれぞれ分画することができる。

本発明によれば、以上のいずれかの分離装置を用いて試料中の成分を分離する方法であって、流路に試料を導入する工程と、主流路において、試料が流路の下流側に移動するようにいずれかの外力印加パターンを実行する第一の工程と、主流路において、試料が流路の上流側に移動するようにいずれかの外力印加パターンを実行する第二の工程と、を順次繰り返すことを特徴とする分離方法が提供される。

本発明の分離方法において、第一の工程における外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間を毎回一定とすることができる。

本発明の分離方法において、第二の工程における外力印加パターンにおいて外力を付与する時間は、第一の工程における外力印加パターンにおいて外力を付与する時間と実質的に同じ時間またはそれ以上の時間とすることができる。

本発明の分離方法において、第一の工程と第二の工程と、を繰り返し実行した後、再び試料を導入する工程を行い、同様の処理を繰り返すことができる。

本発明によれば、被分離成分を含む試料の移動する流路と、流路に設けら

れた複数の室と、被分離成分に外力を付与し流路中を移動せしめる外力付与手段と、を含む分離装置を用いて、流路における試料導入位置から遠ざかる方向および近づく方向に順次外力を付与する処理を繰り返すことにより、被分離成分をいずれかの室に分画することを特徴とする方法が提供される。

- 5 本発明の分離方法において、各被分離成分を、外力の付与による移動距離に応じていずれかの室にそれぞれ分画することができる。

本発明によれば、上記のいずれかの分離方法を実行させる外力切り替え制御部を含むことを特徴とするシステムが提供される。

- 10 本発明によれば、生体試料を分子サイズまたは性状に応じて分離する分離手段と、分離手段により分離された試料に対し、酵素消化処理を含む前処理を行う前処理手段と、前処理された試料を乾燥させる乾燥手段と、乾燥後の試料を質量分析する質量分析手段と、を備え、分離手段は、以上で説明した分離装置のいずれかを含むことを特徴とする質量分析システムが提供される。
- 15 ここで生体試料は、生体から抽出したものであってもよく、合成したものであってもよい。

- 本発明によれば、生体試料を分子サイズまたは性状に応じて分離するとともに、当該試料に対し、酵素消化処理を行うための前処理を行う前処理手段と、前処理手段に前処理された試料に対し、酵素消化処理を行う手段と、酵素消化処理された試料を乾燥させる乾燥手段と、乾燥後の試料を質量分析する質量分析手段と、を備え、前処理手段は、上記いずれかに記載のマイクロチップを含むことを特徴とする質量分析システムが提供される。
- 20

図面の簡単な説明

- 25 上述した目的、およびその他の目的、特徴および利点は、以下に述べる好適な実施の形態、およびそれに付随する以下の図面によってさらに明らかになる。

図1は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す図である。

図2は、図1に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明

する図である。

図 3 は、本発明の実施の形態における分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

図 4 は、図 1 に示した分離装置の他の例を示す図である。

5 図 5 は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す上面図である。

図 6 は、図 5 に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

図 7 は、図 5 に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

10 図 8 は、図 5 に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

図 9 は、図 5 に示した分離装置の変形例を示す図である。

図 10 は、本発明の実施の形態における分離装置の回収部分を示す図である。

15 図 11 は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す上面図である。

図 12 は、図 11 に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

20 図 13 は、図 11 に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

図 14 は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す上面図である。

図 15 は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す上面図である。

25 図 16 は、図 15 に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

図 17 は、図 15 に示した分離装置で試料中の成分を分離する際の動作を説明する図である。

図 1 8 は、本発明の実施の形態における分離装置を示す上面図である。

図 1 9 は、閥門部の構成を詳細に示す図である。

図 2 0 は、電極の製造工程を示す図である。

図 2 1 は、実施の形態における分離装置を示す上面図である。

5 図 2 2 は、従来の分離装置の構成を示す上面図である。

図 2 3 は、質量分析装置の構成を示す概略図である。

図 2 4 は、本発明の実施の形態における分離装置を含む質量分析システムのブロック図である。

図 2 5 は、流路に印加される電圧の印加パターンを示す図である。

10 図 2 6 は、流路に印加される電圧の印加パターンを示す図である。

図 2 7 は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す上面図である。

図 2 8 は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す上面図である。

15 図 2 9 は、本発明の実施の形態における分離装置の構成を示す上面図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明に係る分離装置は、細胞その他の成分、細胞を破壊して得られる成分のうち、固形物（細胞膜の断片、ミトコンドリア、小胞体）と液状分画（細胞質）、液状分画の成分のうち、高分子量成分（DNA、RNA、タンパク質、糖鎖）と低分子量成分（ステロイド、ブドウ糖、ペプチド等）など、様々な成分の分離・濃縮に適用することができる。

また、本発明は、これらの処理に限定されず、外力を付与することにより、移動距離が異なる成分を含むどのような試料をも分離対象とすることができる。外力としては、たとえば電界を印加することにより電気泳動または電気浸透流させる方法、あるいはポンプを用いて圧力を付与することにより移動させる方法等種々の方法を用いることができる。

次に、図面を参照して本発明の実施の形態について説明する。

図 18 は、一般的な分離装置を本実施の形態に適用した構成を示す図である。分離装置 100 は、基板 101 上に形成された試料導入部 104 と、分離用流路 112 と、試料回収部 106 とを含む。本発明の分離装置は、図 1
5 8 に示した構成に限られず、どのような構成とすることもできる。本実施の形態において、試料導入部 104 および試料回収部 106 には電極 120a および電極 120b がそれぞれ設けられている。電極 120a および電極 120b は基板 101 外部の電源 122 に接続される。分離装置 100 は、電源制御部 124 をさらに含む。電源制御部 124 は、電極 120a および電
10 極 120b に印加する電圧の方向、電位、時間等の電圧印加パターンを制御する。

ここで、基板 101 としては、シリコン基板、石英等のガラス基板あるいはプラスチック材料により構成されたものを用いることができる。分離用流路 112 は、このような基板 101 に溝を形成することにより設けることも
15 できるが、たとえば疎水性の基板表面に親水性処理を施したり、親水性の基板表面の流路部分の壁部に疎水性処理を施すこと等によっても形成することができる。さらに、基板 101 としてプラスチック材料を用いる場合、エッチングやエンボス成形等の金型を用いたプレス成形、射出成形、光硬化による形成等、基板 101 の材料の種類に適した公知の方法で分離用流路 11
20 2 を形成することができる。

分離用流路 112 の幅は、分離目的に応じて適宜設定される。たとえば、
(i)細胞とその他の成分の分離、濃縮

(ii)細胞を破壊して得られる成分のうち、固形物（細胞膜の断片、ミトコンドリア、小胞体）と液状分画（細胞質）の分離、濃縮

25 (iii)液状分画の成分のうち、高分子量成分（DNA、RNA、タンパク質、糖鎖）と低分子量成分（ステロイド、ブドウ糖等）の分離、濃縮

といった処理において、

(i)の場合、 $1\mu\text{m} \sim 10\mu\text{m}$ 、

(ii)の場合、 $100\text{ nm} \sim 1\text{ }\mu\text{ m}$ 、
(iii)の場合、 $1\text{ nm} \sim 100\text{ nm}$ 、
とする。

(第一の実施の形態)

5 図1は、本発明の第一の実施の形態における分離装置の一部を示す図である。

分離装置100は、複数の部屋200、202、204、および206に分離された分離用流路112を有する。試料は部屋200に導入され、部屋202、部屋204、部屋206の順で図中右方向に流れた後回収される。

10 部屋200、202、204、および206は、それぞれ長さ d_1 、 d_2 、 d_3 、および d_4 を有する。ここで、各部屋200～206は、回収先に近づくほど長く形成される。つまり、長さ $d_1 < \text{長さ} d_2 < \text{長さ} d_3 < \text{長さ} d_4$ となる。部屋200の入り口、および各部屋200～206の間にはそれぞれ閥門部208、210、212、214が設けられ、これにより試料は、

15 回収先方向（図中右方向）には移動するが、試料導入部（図中左方向）への移動は阻止される。閥門部208～214の詳細な構成については後述するが、閥門部208～214は、導電性を有する材料により構成することができる。なお、ここでは図示していないが、分離用流路112の試料導入側および回収側には電極が設けられており、図18に示した電源制御部124に

20 より電圧の印加パターンが制御される。

このように形成された分離用流路112に複数の成分を含む試料を導入したときの動作を図2を参照して説明する。

まず、図2(a)に示すように、3つの成分 f 、 m 、および s を含む試料を部屋200に導入し、試料が図中右方向に流れるように電圧を印加する。

25 このようにすると、各成分 f 、 m 、および s は、それぞれ固有の速度で図中右方向に移動する。ここで、成分 f が最も速く流れ、成分 m がその次に速く流れ、成分 s が最も遅く流れるものとする。

一定時間電圧を印加すると、図2(b)に示すように、移動速度の速い成

分 f および移動速度の中程度の成分 m は部屋 202 に移動するが、移動速度の遅い成分 s は部屋 200 中に滞在し、部屋 200 中を移動する。この後、電圧の印加方向を逆転させ、試料が左方向に流れるように電圧を印加する。

これにより、成分 f および成分 m は部屋 202 中を閥門部 210 の方向に
5 移動し、成分 s は部屋 200 中を閥門部 208 の方向に移動する。各部屋の間には閥門部 208 および閥門部 210 が設けられているので、図 2 (c) に示すように、成分 f および成分 m は閥門部 210 により堰き止められ、成分 s は閥門部 208 により堰き止められる。

この状態で再び電圧の印加方向を逆転させ試料が図中右方向に流れるように電圧を印加する。一定時間電圧を印加すると、図 2 (d) に示すように、
10 移動速度の速い成分 f は部屋 204 中に移動するが、移動速度が中程度の成分 m は部屋 202 中に滞在し、部屋 202 中を移動する。また、移動速度の遅い成分 s は部屋 200 中に滞在し、部屋 200 中を移動する。この後、再び電圧の印加方向を逆転させ、試料が左方向に流れるように電圧を印加する。

15 このようにすると、図 2 (e) に示すように、各成分 f 、 m 、および s は再びそれぞれ滞在している部屋 204、部屋 202、および部屋 200 の図中左側にある閥門部 212、210、および 208 により堰き止められる。

再び電圧の印加方向を逆転させ、試料が右方向に流れるように電圧を印加し、電圧の印加方向を交互に交換する処理を繰り返す。このとき、試料を回収先方向に流すための電圧は毎回同じ一定時間印加することが好ましい。また、試料を試料導入部方向に流すための電圧を印加する時間は毎回一定にする必要はないが、この処理により、各部屋に含まれる試料がその部屋の左側にある閥門部に到達するのに十分な時間とすることが好ましい。

25 このようにすると、一定時間電圧を印加した際の移動距離が d_1 より小さい成分はいつまでも部屋 200 内に滞在し、次の部屋 202 に移動することができない。同様に、一定時間電圧を印加した際の移動距離が d_2 より小さい成分は部屋 202 中に、一定時間電圧を印加した際の移動距離が d_3 より小さい成分は部屋 204 に、一定時間電圧を印加した際の移動距離が d_4 より

り小さい成分は部屋 206 に滞在し続ける。また、各部屋 200 ~ 206 は、右へ進むほど長さが長く形成されているので、たとえば一定時間電圧を印加した際の移動距離が d_1 以上で d_2 より小さい成分は部屋 202 に滞在し続ける。

5 したがって、図 2 (e) に示したように、部屋 200 に導入した試料中の成分 f、m、および s が分離された後、再び部屋 200 に試料を導入して同様の処理を繰り返すと、最初に導入した試料中の各成分は固有の移動距離に応じて各部屋に滞在し続けるので、次に導入した試料中の同成分と集結することができ、各成分を濃縮して分離することができる。

10 このように、分離用流路 112 に、試料の回収先に近づくにつれて長さが徐々に長くなるようにした複数の部屋 200 ~ 206 を設け、試料の回収先方向への移動と試料導入部方向への移動とを交互に繰り返すことにより、試料中の成分は、それぞれ固有の移動距離に応じて、いずれかの部屋 200 ~ 206 に分離され、徐々に分画することができる。

15 また、試料が回収先方向に流れるように電圧を印加する際、電圧の印加時間を長くしていくと、各成分の右方向への移動距離が増える。電圧の印加時間を少しだけ長くすると、たとえば部屋 206 に滞在し続けていた成分のうち、最も移動速度の速い成分のみが部屋 206 から流出してくる。これにより、部屋 206 内に分画されていた成分のうちでも最も移動速度の速い成分のみを回収することができる。次に、印加時間を少しだけ長くして上記の電圧印加サイクルを繰り返すと、各部屋にはその印加時間において各部屋の図中左側にある部屋の長さに相当する距離以上移動できる成分が分画される。ここで、また電圧の印加時間を少しだけ長くすると、たとえば部屋 206 に滞在し続けていた成分のうち、移動速度の速い成分のみが部屋 206 から流
20 出してくる。このような処理を繰り返すことにより、各成分を濃縮した状態で、精度よく分離して回収することができる。

次に、閥門部 208 ~ 214 の構成を説明する。閥門部 208 ~ 214 は、同様の構成を有するので、ここでは閥門部 210 の構成のみ示す。図 19 に

示すように、本実施の形態において、閥門部 210 は、複数のピラー 125 により構成される。ピラー 125 とは、円柱ないし楕円柱の形状を有する微小な柱状体のことである。ここで、複数のピラー 125 は、試料中の目的成分が通過できない程度の間隔で配置される。また、試料を運ぶバッファ等
5 の流体はピラー 125 間を通過するため、閥門部 210 を導電性とすることができ、分離用流路 112 を通過する試料が閥門部 210 等からの電氣的な影響を受けることなく、分離用流路 112 中を移動することができる。

以上の説明では、分離用流路 112 の各部屋の間に関門部を設ける構成としたが、分離用流路 112 は、閥門部を設けない構成、または閥門部の開口
10 部分を広く設けた構成とすることもできる。この場合、各部屋の入り口部分は、分離用流路 112 の他の領域よりも幅狭に形成され、少なくとも試料の一部が試料導入部方向へ移動するのを阻止できる構成となっていればよい。

図 3 は、このような分離用流路 112 の一部を示す図である。ここでは部屋 200 および部屋 202 を示す。この場合、各部屋 200 および 202 の
15 入り口には、各部屋を区切る壁部が形成される。これにより、各部屋 200 および部屋 202 の入り口部分は、分離用流路 112 の他の領域よりも幅狭となっている。なお、壁部は、試料が壁部を通過する割合が、試料を回収先方向（図中右方向）に流したときよりも試料導入口方向（図中左方向）に流したときの方が高くなるように形成されるのが好ましい。

図 3 に示した分離用流路 112 に複数の成分 f および m を含む試料を部屋 200 に導入した場合の動作を説明する。試料を部屋 200 に導入した後、試料が右方向に移動するように電圧を印加すると、移動速度の速い成分 f は部屋 202 の中程に移動し、移動速度の遅い成分 m は部屋 200 に滞在する。
以下、説明のため、成分 f についてのみ説明する。試料が左方向に移動する
25 ように電圧を印加すると、部屋 202 に滞在していた成分 f のうち、一部は図中左側の部屋 200 へ逆流するが、部屋 200 と部屋 202 の間には壁部が設けられているため、壁部により成分の移動が阻害され、成分 f の一部はそのまま部屋 202 の壁部近傍に滞在する。

次に再び電圧の印加方向を逆転して図中右方向に試料を移動させる。このとき、成分 f のうち、部屋 2 0 0 に逆流していた成分は逆流する前の位置（部屋 2 0 2 の中程）に戻る。また、成分 f のうち、部屋 2 0 2 の壁部近傍に滞在していた成分は部屋 2 0 2 の先の方、または図中右方向の次の部屋に移動する。この後、再び電圧の印加方向を逆転して試料を左方向に移動させると、部屋 2 0 2 の中程に移動していた成分 f のうちの一部が部屋 2 0 2 に逆流し、残りの一部は部屋 2 0 0 と部屋 2 0 2 の間の壁部近傍に滞在する。このように、電圧の印加方向を変換するサイクルを重ねることにより、指数関数的に図中左側の元の部屋に逆流する割合が下がり、各部屋にはその長さに応じた成分が集結されることになる。

本実施の形態において、分離用流路 1 1 2 中で各成分を集結・濃縮して回収することができるので、分析に用いる試料を高濃度で取得することができ、分析の精度を高めることができる。

さらに、分離用流路は、図 4 に示したように各部屋の間複数の閥門部が設けられた構成とすることもできる。この場合、複数の閥門部 2 0 8 ~ 2 1 4 は、試料の流れ方向に垂直な方向に並置される。これにより、より多くの試料を迅速に精度よく分離することができる。

（第二の実施の形態）

図 2 7 は、本発明の第二の実施の形態における分離装置 1 0 0 の構成を示す上面図である。本実施の形態において、分離用流路 1 1 2 は、複数の分流路 2 1 6、分流路 2 1 8、および分流路 2 2 0 を有する。ここで、試料は分流路 2 1 6 に導入され、分流路 2 1 8、分流路 2 2 0 を流れた後回収される。分流路 2 1 6、分流路 2 1 8、および分流路 2 2 0 は、回収先に近づくほど長く形成される。つまり、分流路 2 2 0 が最も長く、その次に分流路 2 1 8 が長く、分流路 2 1 6 が最も短い。分流路 2 1 6 および分流路 2 1 8 は、分岐点 2 7 4 で折れ曲がるように形成され、分流路 2 1 8 および分流路 2 2 0 は、分岐点 2 7 6 で折れ曲がるように形成されている。ここで、分流路 2 1

6 および分流路 2 1 8 は、実質的に平行に形成される。

また、分流路 2 1 6 と分流路 2 1 8 の間には逆流防止弁 2 3 0 が、分流路 2 1 8 と分流路 2 2 0 の間には逆流防止弁 2 3 2 が設けられている。逆流防止弁 2 3 0 は、分岐点 2 7 4 に達した成分が、再び分流路 2 1 6 の方向に逆流するのを阻止するように構成される。同様に、逆流防止弁 2 3 2 は、分岐点 2 7 6 に達した成分が、再び分流路 2 1 8 の方向に逆流するのを阻止するように構成される。これにより、分岐点 2 7 4 および分岐点 2 7 6 に成分が存在する際に、試料導入部 2 7 8 方向に逆流する成分の割合を低下することができるので、試料中の成分を精度よく効率よく分離することが可能となる。

10 逆流防止弁 2 3 0 および逆流防止弁 2 3 2 は、たとえば第一の実施の形態において説明したピラー 1 2 5 により構成することができる。また、逆流防止弁 2 3 0 および逆流防止弁 2 3 2 は、親水性の分離用流路 1 1 2 表面に、疎水性処理を施すことにより形成することもできる。疎水性処理は、シランカップリング剤やシラザン（ヘキサメチルシラザン等）等のシラン化合物を用いて、スピンコート法、スプレー法、ディップ法、または気相法等により
15 分離用流路 1 1 2 表面に疎水性膜を形成する手法を用いることができる。シランカップリング剤としては、たとえばチオール基等の疎水基を有するものを用いることができる。

また、疎水性処理は、スタンプやインクジェットなどの印刷技術を用いて
20 行うこともできる。スタンプによる方法では、P D M S（polydimethylsiloxane）樹脂を用いる。P D M S 樹脂はシリコンオイルを重合して樹脂化するが、樹脂化した後も分子間隙にシリコンオイルが充填された状態となっている。そのため、P D M S 樹脂を分離用流路 1 1 2 の表面に接触させると、接触した部分が強い疎水性となり水をはじく。これを利用して、逆流防止弁 2 3 0 および逆流防止弁 2 3 2 部分に対応する位置に
25 凹部を形成した P D M S 樹脂のブロックをスタンプとして接触させることにより、疎水性の逆流防止弁 2 3 0 および逆流防止弁 2 3 2 が形成される。また、インクジェットによる方法では、シリコンオイルをインクジェット

プリントのインクとして用いることにより、疎水性の逆流防止弁 230 および逆流防止弁 232 が形成される。このように疎水性処理が施された領域では、流体が通過できないため、試料の流れが阻害される。逆流防止弁 230 を図示したように、分流路 216 を、分流路 218 との境界において、分流路 218 に近づく程幅が狭くなるようにテーパ状に形成することにより、分流路 216 から分流路 218 への試料の移動は比較的容易に行われるが、逆方向の試料の移動を阻止することができる。

分離装置 100 の基板 101 の図中下側と上側には、第一の電極 281a および第二の電極 281b が設けられる。これらの電極 281a および 281b への電圧の印加方向を切り替えることにより、試料中の成分を分流路 216、218、220 の上方向または下方向に移動させることができる。なお、本実施の形態においても、第一の実施の形態において図 18 を参照して説明したのと同様、第一の電極 281a および第二の電極 281b は、電源および電源制御部に接続され、電源制御部により第一の電極 281a および第二の電極 281b に印加する電圧のパターンが制御される。ここで、分離装置 100 の基板には、側壁 101a が形成され、分流路 216、分流路 218、および分流路 220 が形成された領域以外の部分は、たとえば第一の実施の形態において説明したピラー 125 を形成しておくことができる。ピラー 125 は、試料中の被分離成分が通過できない程度の間隔に配置される。また、ピラー 125 を配置する構成に限られず、たとえばフィルター等で流路 112 を区画する構成とすることもでき、流路 112 から被分離成分が流出せず、かつ流路 112 内にバッファ等が流通して電流が流れる状態とできる構成となっていればどのような構成であってもよい。この状態で、基板 101 表面をバッファ等で満たしておく、第一の電極 281a および第二の電極 281b に電圧を印加することにより、各分流路 216、分流路 218、および分流路 220 において、試料を図中上方向および下方向に移動させることができる。

また、本実施の形態において、分離装置 100 は、図 5 に示したような構

成とすることもできる。この場合、各分流路 216、218、220 の両端には電極 282、電極 284、電極 286、電極 288 が設けられる。各電極 284～288 への電圧の印加方向を切り替えることにより、試料中の成分を分流路 216、218、220 の上方向または下方向に移動させることができる。なお、この場合も、各電極 284～288 は電源および電源制御部に接続され、電源制御部により各電極 284～288 に印加する電圧のパターンが制御される。また、電源制御部は、各流路 216～220 のそれぞれに印加される電圧が等しくなるように制御する。たとえば、電界の強さは電極間の電位差と電極間の距離に依存するため、本実施の形態における分離装置 100 のように、分流路 216、218、220 の長さが異なる場合、電源制御部は、各分流路 216、218、220 に異なる電位差が生じるように電圧を印加する。本実施の形態において、各分流路 216～220 の長さを異ならせる例を説明したが、図 5 に示したような構成としておけば、分流路 216～220 の長さを一定にして、それぞれの分流路に印加する電圧の大きさが異なるように電圧を印加することによっても同様の効果が得られる。

電極 282～288 は、たとえば以下のようにして形成することができる。

図 20 は、電極 282 の製造工程を示す図である。このとき、他の電極 284～288 も同様に形成される。

まず、電極 282 の装着部分を含む金型 173 を準備する(図 20(a))。つづいて、金型 173 内に電極 282 を設置する(図 20(b))。電極 282 の材料としては、たとえば Au、Pt、Ag、Al、Cu 等を用いることができる。その後、金型 173 に被覆用金型 179 をセットして電極 282 を固定し、基板 101 となる樹脂 177 を金型 173 内に射出し、成型する(図 20(c))。ここで、樹脂 177 としては、たとえば PMMA 樹脂を用いることができる。

このようにして、成形された樹脂 177 を金型 173 および被覆用金型 179 から外すと、流路 112 が形成された基板 101 が得られる(図 20

(d))。電極 2 8 2 表面の不純物をアッシングにより除去し、電極 2 8 2 を基板 1 0 1 裏面に露出させる。つづいて、基板 1 0 1 の裏面に金属膜を蒸着等することにより配線 1 8 1 を形成する(図 2 0 (e))。以上のようにして、流路 1 1 2 中に電極 2 8 2 を設けることができる。このようにして形成された電極 2 8 2 または配線 1 8 1 は、外部電源(不図示)に接続され、電圧を印加することができるようになっている。

次に、図 5 に示した構成の分離装置 1 0 0 を例として、分離用流路 1 1 2 に試料を導入したときの動作を図 6 から図 8 を参照して説明する。図 2 7 に示した構成の分離装置 1 0 0 についても、同様の動作が行われる。

10 まず、図 6 (a) に示すように、3 つの成分 f、m、および s を含む試料を分流路 2 1 6 に導入し、試料が図中上方向(矢印の方向)に流れるように電圧を印加する。このようにすると、各成分 f、m、および s は、それぞれ固有の速度で図中上方向に移動する。ここで、成分 f が最も速く流れ、成分 m がその次に速く流れ、成分 s が最も遅く流れるものとする。

15 一定時間電圧を印加すると、図 6 (b) に示すように、移動速度の速い成分 f が、つづいて成分 m が分岐点 2 7 4 に達する。ここでは、成分 f が流路 2 1 8 よりも長い距離を移動する時間を一定時間として電圧を印加する。このとき、成分 s は分流路 2 1 6 中を移動している。

この後、電圧の印加方向を逆転させ、試料が図中下方向に流れるように電圧を印加する。これにより、成分 f および成分 m は分流路 2 1 8 中を図中下方向に移動し、成分 s は分流路 2 1 6 中を図中下方向に移動する。また一定時間電圧を印加すると、図 6 (c) に示すように、成分 f は分岐点 2 7 6 に達する。このとき、成分 m は分流路 2 1 8 中を移動している。また、成分 s は分流路 2 1 6 中を逆戻りして試料導入部 2 7 8 に移動する。

25 この状態で再び電圧の印加方向を逆転させ試料が上方向に流れるように電圧を印加する。一定時間電圧を印加すると、図 6 (d) に示すように、移動速度の速い成分 f は分流路 2 2 0 中を移動する。このとき、成分 m は分流路 2 1 8 中を逆戻りして分岐点 2 7 4 に達する。成分 s は分流路 2 1 6 中を

移動する。この状態で再び電圧の印加方向を逆転させ試料が下方向に流れるように電圧を印加する。すると、図 7 (a) に示すように、成分 f は分岐点 2 7 6 に移動し、成分 m は分流路 2 1 8 中を下方向に移動する。このとき成分 s は再び分流路 2 1 6 の試料導入部 2 7 8 に達する。

- 5 つづいて、図 7 (b) に示すように、新たな試料を分流路 2 1 6 に導入した後、試料が上方向に流れるように、電圧を印加する。一定時間電圧を印加すると、図 7 (c) に示すように成分が分離される。つづいて、再び電圧の印加方向を逆転させ試料が下方向に流れるように電圧を印加する。一定時間電圧を印加すると、図 7 (d) に示したように、最初に導入した試料中の成分 f および後から導入した試料中の成分 f がともに分岐点 2 7 6 に移動し、成分 m は分流路 2 1 8 中、成分 s は分流路 2 1 6 の末端にそれぞれ集結される。

- 以下、同様の処理を繰り返す。このようにすると、一定時間電圧を印加した際の移動距離が分流路 2 1 6 の長さより短い成分はいつまでも分流路 2 1 6 内に滞在し、次の分流路 2 1 8 に移動することができない。同様に、一定時間電圧を印加した際の移動距離が分流路 2 1 8 の長さより短い成分はいつまでも分流路 2 1 8 内に滞在し、一定時間電圧を印加した際の移動距離が分流路 2 2 0 の長さより短い成分はいつまでも分流路 2 2 0 内に滞在し続ける。

- 20 このように、試料が図中上方向および下方向に交互に流れるように一定時間電圧を印加するサイクルの処理を繰り返すと、試料中に含まれる複数の成分が、それぞれの移動距離に応じて各分流路に分離されるようになる。したがって、試料導入部 2 7 8 から随時試料を追加してこのサイクルの処理を行えば、各成分は固有の移動距離に応じて各分流路に分離されるので、各成分を濃縮して分離することができる。これにより、図 8 に示すように、集結して濃縮された成分 s が分流路 2 1 6 内、集結して濃縮された成分 m が分流路 2 1 8 内、集結して濃縮された成分 f が分流路 2 2 0 内に分離された状態とすることができる。

図 2 5 は、本実施の形態において、電源制御部により各分流路 2 1 6 ~ 2 2 0 に印加される電圧の印加パターンを示す図である。以上の実施の形態では、分離用流路 1 1 2 は分流路を三つ含むとして説明したが、分流路はこれ以上多数設けることができる。以下、分流路 2 1 6、分流路 2 1 8、分流路 2 2 0 および分流路 2 2 0 の隣にもう一つ別の分流路 X が設けられた場合を想定して説明する。図中「+」は分離用流路 1 1 2 の進行方向（回収部に近づく方向）に試料が移動するように電圧が印加された場合、「-」はその逆の方向に試料が移動するように電圧が印加された場合を示す。

図示したように、電流制御部は、まず分流路 2 1 6 および分流路 2 1 8 に + の電圧が印加され、分流路 2 1 8 および分流路 X に - の電圧が印加されるようなパターン 1 を実行する。つづいて、電源制御部は、分流路 2 1 6 および分流路 2 1 8 に - の電圧が印加され、分流路 2 1 8 および分流路 X に + の電圧が印加されるようなパターン 2 を実行する。これ以降、電源制御部は同じ処理を繰り返す。

図 9 は、図 5 に示した分離装置 1 0 0 の変形例を示す図である。図 5 に示した分離装置 1 0 0 では、分離用流路 1 1 2 に逆流防止弁 2 3 0 と、逆流防止弁 2 3 2 とを設けた構成を説明したが、これらを省略した構成とすることもできる。

この場合、たとえば分岐点 2 7 4 に成分が存在するときに、試料が下方向に流れるように電圧を印加すると、分岐点 2 7 4 に存在していた成分は分流路 2 1 8 に流れ込むが、このとき同時に分流路 2 1 6 にも流れ込んでしまう。しかし、試料導入部 2 7 8 から順次試料を追加して、電圧印加サイクルを繰り返すと、同じ移動速度で移動する成分は同じ分流路内に集結していくので、各成分を濃縮して分離することができる。

ここで、各分流路 2 1 6 ~ 2 2 0 は、分岐点 2 7 4 および分岐点 2 7 6 に達した成分が回収方向に近づく方向に高い割合で移動するように形成されるのが好ましい。これにより、電圧印加サイクルの回数を減らしても、精度よく成分の分離を行うことができる。

本実施の形態における分離装置 100 で分離した各成分は、電圧を印加する時間を徐々に長くすることにより、分離用流路 112 の端部 284 から順次取り出すこともできるが、分岐点 274 や分岐点 276 から取り出すようにすることもできる。図 10 は、分岐点 274 および分岐点 276 に試料回収部を設けた例を示す図である。分離装置 100 は、分岐点 274 に設けられた回収用流路 223 と、分岐点 276 に設けられた回収用流路 225 と、試料導入部 222 と、試料回収部 224 と、試料回収部 226 と、試料回収部 228 と、を含む。試料導入部 222、分岐点 274、分岐点 276、試料回収部 228、試料回収部 224、試料回収部 226 には、それぞれ電極 292a、電極 292b、電極 292c、電極 292d、電極 292e、および電極 292f が設けられる。

このように構成された分離装置 100 を用いて試料中の成分を分離・回収する方法を説明する。ここでは、たとえば DNA 等マイナスに帯電した物質を分離する場合を例として説明する。

まず、試料導入部 222 に試料を導入し、電極 292a および電極 292c に対して電極 292b の電位が高くなるように、また電極 292c に対して電極 292d の電位が高くなるように電圧を印加する。これにより、試料が図中上方向に流れる。このとき、電極 292e および電極 292f は、それぞれ電極 292b および電極 292c より電位が低くなるようにされる。これにより、試料導入部 222 に導入された試料は分岐点 274 の方向に流れ、移動速度の速い成分は分岐点 274 に達する。このとき、電極 292b の電位は電極 292e の電位より高くなっているため、分岐点 274 に達した成分がマイナスに帯電している場合、回収用流路 223 に流れ込まないようにすることができる。

次に、電極 292a および電極 292c に対して電極 292b の電位が低くなるように、また電極 292c に対して電極 292d の電位が低くなるように電圧を印加する。このとき、電極 292e および電極 292f は、それぞれ電極 292b および電極 292c より電位が低くなるようにされる。こ

れにより、分流路 2 1 8 に滞在していた成分は分流路 2 1 8 に移動し、移動速度の速い成分は分岐点 2 7 6 に達する。このとき、電極 2 9 2 c の電位は電極 2 9 2 f の電位より高くなっているため、分岐点 2 7 6 に達した成分がマイナスに帯電している場合、回収用流路 2 2 3 に流れ込まないようにすることができる。

このようにして電圧印加サイクルを繰り返すと、各成分はそれぞれ固有の移動距離に応じていずれかの分岐点 2 7 4 または 2 7 6 に集結される。ここで、各分岐点 2 7 4 または 2 7 6 から成分を回収する際には、電極 2 9 2 e および電極 2 9 2 f の電位がそれぞれ電極 2 9 2 b および電極 2 9 2 c よりも高くなるように電圧を印加する。これにより、分岐点 2 7 4 に滞在していた成分および分岐点 2 7 6 に滞在していた成分をそれぞれ試料回収部 2 2 4 および試料回収部 2 2 6 に回収することができる。

(第三の実施の形態)

図 2 8 は、本発明の第三の実施の形態における分離装置 1 0 0 の構成を示す上面図である。本実施の形態において、分離用流路 1 1 2 は、主流路 2 3 6 と、分流路 2 3 8 と、分流路 2 4 0 と、分流路 2 4 2 と、試料導入部 2 3 4 と、試料回収部 2 4 4 と、を有する。ここで、分流路 2 3 8 は長さが L_3 、分流路 2 4 0 は長さが L_2 、分流路 2 4 2 は長さが L_1 となるように形成される。また、分流路 2 3 8 は、主流路 2 3 6 において、試料導入部 2 3 4 からの距離が L_3 の分岐点 2 4 6 から分枝し、分流路 2 4 0 は、主流路 2 3 6 において、試料導入部 2 3 4 からの距離が L_2 の分岐点 2 4 8 から分枝し、分流路 2 4 2 は、主流路 2 3 6 において、試料導入部 2 3 4 からの距離が L_1 の分岐点 2 5 0 から分枝する。さらに、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 は、主流路 2 3 6 と所定の角度をなすように形成され、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 は、互いに平行に形成される。

ここで、分離装置 1 0 0 の基板 1 0 1 の図中下側と上側には、それぞれ、

第一の電極 2 9 1 a および第二の電極 2 9 1 b が設けられる。これらの第一の電極 2 9 1 a および 2 9 1 b への電圧の印加方向を切り替えることにより、試料中の成分を主流路 2 3 6、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 の上方向または下方向に移動させることができる。なお、本実施
5 の形態においても、第一の実施の形態において図 1 8 を参照して説明したのと同様、第一の電極 2 9 1 a および第二の電極 2 9 1 b は、電源および電源制御部に接続され、電源制御部により第一の電極 2 9 1 a および第二の電極 2 9 1 b に印加する電圧のパターンが制御される。ここでも、基板 1 0 1 は、第二の実施の形態において説明したのと同様に側壁 1 0 1 a が形成され、流
10 路 1 1 2 以外の領域には被分離成分が通過できないように構成されたたとえばピラー 1 2 5 等が配置される。この状態で、基板 1 0 1 表面をバッファー等で満たしておく、第一の電極 2 9 1 a および第二の電極 2 9 1 b に電圧を印加することにより、流路 1 1 2 において試料を図中上方向および下方向に移動させることができる。

15 また、本実施の形態において、分離装置 1 0 0 は、図 1 1 に示したような構成とすることもできる。この場合、分流路 2 3 8 ~ 分流路 2 4 2 の両端には、それぞれ電極 2 9 0 が設けられる。また、図示していないが、試料導入部 2 3 4 および試料回収部 2 4 4 にも電極が設けられている。なお、この場合も、各電極 2 9 0 および試料導入部 2 3 4 および試料回収部 2 4 4 に設け
20 られた電極は電源および電源制御部に接続され、電源制御部により各電極に印加する電圧のパターンが制御される。また、電源制御部は、主流路 2 3 6、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 それぞれに印加される電圧が等しくなるように制御する。

次に、図 1 1 に示した構成の分離装置 1 0 0 を例として、分離用流路 1 1
25 2 に試料を導入したときの動作を図 1 2 および図 1 3 を参照して説明する。図 2 8 に示した構成の分離装置 1 0 0 についても、同様の動作が行われる。

まず、図 1 2 (a) に示すように、3つの成分 f、m、および s を含む試料を試料導入部 2 3 4 に導入する。つづいて、試料が図中上方向（矢印の方

向)に流れるように電圧を印加する。このようにすると、各成分 f、m、および s は、それぞれ固有の速度で図中上方向に移動する。ここで、成分 f が最も速く流れ、成分 m がその次に速く流れ、成分 s が最も遅く流れるものとする。

- 5 一定時間電圧を印加すると、図 1 2 (b) に示すように、各成分 f、m、および s がそれぞれ分離される。つづいて、電圧の印加方向を逆転させ、試料が図中下方向に流れるように電圧を印加する。これにより、各成分 f、m、および s は、主流路 2 3 6 中を試料回収部 2 4 4 の方向から試料導入部 2 3 4 の方向に移動する。このとき、分岐点 2 5 0 (図 1 1) よりも試料回収部 2 4 4 側にある成分 f は分岐点 2 5 0 を通過する際に、ある程度の割合で分流路 2 4 2 に移動する。また、このとき、分岐点 2 5 0 と分岐点 2 4 8 (図 1 1) との間にある成分 m は、分岐点 2 4 8 を通過する際に、ある程度の割合で分流路 2 4 0 に移動する。同様に、分岐点 2 4 8 と分岐点 2 4 6 (図 1 1) との間にある成分 s は、分岐点 2 4 6 を通過する際に、ある程度の割合で分流路 2 3 8 に移動する。試料が下方向に流れる電圧の印加を行うと、図 1 2 (c) に示すように、成分 f、成分 m、成分 s は、それぞれ分流路 2 4 2、分流路 2 4 0、および分流路 2 3 8 の端部に移動し、これらの成分の一部は試料導入部 2 3 4 に戻る。このとき、図中下方向に試料を流す際に、流路に存在する物質が電極 2 9 0 のあたりに到達して滞留するように、毎回、図中下方向に試料が流れるように電圧を印加する時間を図中上方向に試料が流れるように電圧を印加する時間よりも長くする。

- つづいて、図 1 3 (a) に示すように、試料導入部 2 3 4 にさらに試料を追加し、試料が図中上方向 (矢印の方向) に流れるように電圧を印加する。この方向への電圧の印加を一定時間行った後、再び電圧の印加方向を逆転させて一定時間電圧を印加する。このような処理を繰り返すことにより、図 1 3 (b) に示すように、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 の端部に移動する各成分の量が増加していく。

その後、さらに試料が図中上方向に流れるように電圧を印加すると、図 1

3 (c) に示すように、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 の端部に位置していた成分も、試料導入部 2 3 4 に位置していた成分も、移動距離が同じ成分は分岐点 2 4 6、分岐点 2 4 8、分岐点 2 5 0 で合流して集結される。このままこの方向の電圧を印加すると、集結された各成分を順次試料回収部 2 4 4 から取り出すことができる。このように、本実施の形態において、主流路から分岐して設けられた各分流路の長さを、試料導入部から該当する分岐点までの長さと同じにしておくことで、試料導入部から追加した試料中の成分と、その前に各分流路に分離していた成分とをあわせて回収することができる。このように、本実施の形態における分離装置 1 0 0 によれば、試料中の成分を濃縮して分離することができる。

また、図示していないが、各成分は、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 の端部から回収する構成とすることもできる。

(第四の実施の形態)

図 1 4 は、本発明の第四の実施の形態における分離装置 1 0 0 の構成を示す上面図である。本実施の形態においても、第三の実施の形態において図 1 1 を参照して説明したのと同様、分離用流路 1 1 2 は、主流路 2 3 6 と、分流路 2 3 8 と、分流路 2 4 0 と、分流路 2 4 2 と、試料導入部 2 3 4 と、試料回収部 2 4 4 と、を有する。本実施の形態において、分流路 2 3 8 は、主流路 2 3 6 において、試料導入部 2 3 4 からの距離が L_3 の分岐点 2 4 6 から分枝し、分流路 2 4 0 は、主流路 2 3 6 において、試料導入部 2 3 4 からの距離が L_2 の分岐点 2 4 8 から分枝し、分流路 2 4 2 は、主流路 2 3 6 において、試料導入部 2 3 4 からの距離が L_1 の分岐点 2 5 0 から分枝する。分流路 2 3 8 は長さが L_6 、分流路 2 4 0 は長さが L_5 、分流路 2 4 2 は長さが L_4 となるように形成される。本実施の形態において、分流路 2 3 8 は、試料導入部 2 3 4 から分岐点 2 4 6 までの距離より長く、分流路 2 4 0 は試料導入部 2 3 4 から分岐点 2 4 8 までの距離より長く、分流路 2 4 2 は、試料導入部 2 3 4 から分岐点 2 5 0 までの距離より長く形成される。つまり、

$L_6 > L_3$ 、 $L_5 > L_2$ 、 $L_4 > L_1$ となる。

このように形成された分離用流路 1 1 2 の試料導入部 2 3 4 から第三の実施の形態において説明したのと同様に複数の成分を含む試料を導入し、電圧印加サイクルを繰り返す。このとき、毎回、図中下方向に試料が流れるように電圧を印加する時間を図中上方向に試料が流れるように電圧を印加する時間よりも長くする。そのようにすると、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 に移動された試料は分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 の端部に達し、上方向に試料が流れるように電圧を印加した場合にも分岐点 2 4 6、分岐点 2 4 8、分岐点 2 5 0 まで到達しない。そのため、一度分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 に移動された成分が試料導入部 2 3 4 に逆流するのを防ぐことができる。

本実施の形態においても、成分を分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 に移動させた後に、試料が上方向に移動するように電圧を印加すると、集結された各成分を順次試料回収部 2 4 4 から取り出すことができる。このように、本実施の形態における分離装置 1 0 0 によれば、試料中の成分を濃縮して分離することができる。また、図示していないが、各成分は、分流路 2 3 8、分流路 2 4 0、および分流路 2 4 2 の端部から回収する構成とすることもできる。

なお、本実施の形態においても、第三の実施の形態において図 2 8 に示したように、基板 1 0 1 の図中上側と下側に電極 2 9 1 a および 2 9 1 b を設けた構成とすることももちろん可能である。

(第五の実施の形態)

図 2 9 は、本発明の第五の実施の形態における分離装置 1 0 0 の構成を示す上面図である。本実施の形態における分離装置 1 0 0 は、分離用流路 1 1 2 と、試料導入部 2 5 2 と、試料回収部 2 7 2 とを有する。分離用流路 1 1 2 は、複数の分流路 2 5 4、2 5 8、2 6 2、2 6 6、および 2 7 0 を有する。また、分離用流路 1 1 2 は、分流路 2 5 4 と分流路 2 5 8 を結ぶ接続流

路 2 5 6 と、分流路 2 5 8 と分流路 2 6 2 とを結ぶ接続流路 2 6 0 と、分流路 2 6 2 と分流路 2 6 6 とを結ぶ接続流路 2 6 4 と、分流路 2 6 6 と分流路 2 7 0 とを結ぶ接続流路 2 6 8 とを含む。分流路 2 5 4、2 5 8、2 6 2、2 6 6、および 2 7 0 は、試料回収部 2 7 2 に近づくにつれて長くなるように形成される。つまり、分流路 2 5 4 の長さ<分流路 2 5 8 の長さ<分流路 2 6 2 の長さ<分流路 2 6 6 の長さ<分流路 2 7 0 の長さとなる。

ここで、分離装置 1 0 0 の基板 1 0 1 の図中下側と上側、図中左側と右側には、それぞれ、第一の電極 2 9 0 a、第二の電極 2 9 0 b、第三の電極 2 9 0 c、および第四の電極 2 9 0 d が設けられる。これらの第一の電極 2 9 0 a および第二の電極 2 9 0 b への電圧の印加方向を切り替えることにより、試料中の成分を流路 1 1 2 の図中上方向または下方向に移動させることができる。また、第三の電極 2 9 0 c および第四の電極 2 9 0 d へ電圧を印加することにより、試料中の成分を流路 1 1 2 の図中右方向に移動させることができる。なお、本実施の形態においても、第一の実施の形態において図 1 8 を参照して説明したのと同様、各電極 2 9 0 a ~ 2 9 0 d は、電源および電源制御部に接続され、電源制御部により各電極 2 9 0 a ~ 2 9 0 d に印加する電圧のパターンが制御される。ここでも、基板 1 0 1 は、第二の実施の形態において説明したのと同様に側壁 1 0 1 a が形成され、流路 1 1 2 以外の領域には被分離成分が通過できないように構成されたたとえばピラー 1 2 5 等が配置される。この状態で、基板 1 0 1 表面をバッファ等であらわしておくと、第一の電極 2 9 0 a および第二の電極 2 9 0 b 間、ならびに第三の電極 2 9 0 c および第四の電極 2 9 0 d 間に電圧を印加することにより、流路 1 1 2 において試料を図中上方向、下方向および右方向に移動させることができる。

また、本実施の形態において、分離装置 1 0 0 は、図 1 5 に示したような構成とすることもできる。この場合、分流路 2 5 4、接続流路 2 5 6、分流路 2 5 8、接続流路 2 6 0、分流路 2 6 2、接続流路 2 6 4、分流路 2 6 6、接続流路 2 6 8、分流路 2 7 0 がそれぞれ連結された屈曲部分には、それぞ

れ電極 2 9 0 が設けられる。また、図示していないが、試料導入部 2 5 2 および試料回収部 2 7 2 にも電極が設けられている。この場合も、各電極 2 9 0 および試料導入部 2 5 2 および試料回収部 2 7 2 に設けられた電極は電源および電源制御部に接続され、電源制御部により各電極への印加する電圧のパターンが制御される。また、電源制御部は、これらの分流路 2 5 4、2 5 8、2 6 2、2 6 6、および 2 7 0 それぞれに印加される電圧が等しくなるように制御する。

次に、図 1 5 に示した構成の分離装置 1 0 0 を例として、分離用流路 1 1 2 に試料を導入したときの動作を図 1 6 を参照して説明する。図 2 9 に示した構成の分離装置 1 0 0 についても、同様の動作が行われる。

まず、図 1 6 (a) に示すように、3つの成分 f、m、および s を含む試料を試料導入部 2 5 2 に導入し、試料が図中下方向（矢印の方向）に流れるように電圧を印加する。このようにすると、各成分 f、m、および s は、それぞれ固有の速度で図中下方向に移動する。ここで、成分 f が最も速く流れ、成分 m がその次に速く流れ、成分 s が最も遅く流れるものとする。

一定時間電圧を印加すると、図 1 6 (b) に示すように、移動速度の速い成分 f および m が分流路 2 5 4 の接続流路 2 5 6 との境界に移動する。このとき、成分 s は分流路 2 5 4 中を移動する。

この後、電圧の印加方向を変換し、試料が図中右方向に流れるように電圧を印加する。これにより、成分 f および成分 m は接続流路 2 5 6 中を図中右方向に移動し、接続流路 2 5 6 と分流路 2 5 8 との境界に達する。一方、このとき成分 s は移動しない。

つづいて、電圧の印加方向を再び変換し、試料が図中上方向に流れるように電圧を印加する。これにより、図 1 6 (c) に示すように、成分 f および成分 m は分流路 2 5 8 中を接続流路 2 6 0 の方向に移動する。一方、成分 s は、分流路 2 5 4 中を試料導入部 2 5 2 の方向に移動する。

成分 f が分流路 2 5 8 と接続流路 2 6 0 との境界に達した時点で再び電圧の印加方向を変換し、試料が図中右方向に流れるように電圧を印加する。

これにより、図 1 6 (d) に示すように、成分 f は接続流路 2 6 0 と分流路 2 6 2 との境界に移動する。このとき成分 m および成分 s は移動しない。

つづいて、電圧の印加方向を再び変換し、試料が図中下方向に流れるように電圧を印加する。これにより、成分 f は分流路 2 6 2 中を、成分 m は分流路 2 5 8 中を、成分 s は分流路 2 5 4 中を下方向に移動する。このとき、試料導入部 2 5 2 から次の試料を導入すると、各成分はそれぞれ固有の速度で分流路 2 5 4 を図中下方向に移動する。その結果、各成分は図 1 7 (a) に示すように分離される。これ以降同様の電圧印加サイクルを繰り返すと、図 1 7 (b) に示すように、各成分はそれぞれ一定時間で移動する距離に応じていずれかの分流路に集結される。

図 2 6 は、本実施の形態において、電源制御部により分流路 2 5 4、接続流路 2 5 6、分流路 2 5 8、および接続流路 2 6 0 に印加される電圧の印加パターンを示す図である。図中「+」は分離用流路 1 1 2 の進行方向（試料回収部 2 7 2 に近づく方向）に試料が移動するように電圧が印加された場合、「-」はその逆の方向に試料が移動するように電圧が印加された場合を示す。また、試料の移動がない方向に電圧が印加された場合を「0」とする。

図示したように、電流制御部は、まず分流路 2 5 4 に+の電圧が印加され、分流路 2 5 8 に-の電圧が印加され、接続流路 2 5 6 および接続流路 2 6 0 が「0」となるようなパターン 1 を実行する。つづいて、電源制御部は、接続流路 2 5 6 および接続流路 2 6 0 に+の電圧が印加され、分流路 2 5 4 および分流路 2 5 8 が「0」となるようなパターン 2 を実行する。その後、電流制御部は、分流路 2 5 8 に+の電圧が印加され、分流路 2 5 4 に-の電圧が印加され、接続流路 2 5 6 および接続流路 2 6 0 が「0」となるようなパターン 3 を実行する。これ以降、電源制御部は同じ処理を繰り返す。

本実施の形態において、各分流路の端部に達した成分は全て次の分流路へ移動され、成分の逆流が起こらないので、電圧印加サイクルの回数を少なくしても、各成分を効率よく分離・濃縮することができる。

さらに、分離装置 1 0 0 は、図 2 1 に示すような構成とすることもできる。

分離用流路 1 1 2 には試料導入部 2 9 8 および試料回収部 2 9 6 を有する。ここでも、分離用流路 1 1 2 の屈曲部分にはそれぞれ電極 2 9 4 が設けられ、図中下方向に試料が移動するように電圧が印加され、つづいて図中右方向、図中上方向、図中左方向・・に試料が順次移動するように電圧が印加される。

- 5 このような形状としても、屈曲部分で区画された各分流路は、それぞれ異なる長さを有するので、試料中の成分は固有の移動速度で分離用流路 1 1 2 中を移動し、それぞれの移動距離に応じていずれかの分流路内に濃縮されて分画される。

10 以上の実施の形態において説明した分離装置 1 0 0 は、MALDI-TOFMS 測定を行う前の分離に用いることができる。以下、タンパク質の MALDI-TOFMS 用試料調製および測定を行う例を説明する。

MALDI-TOFMS 測定を行うためには、測定対象のタンパク質を、1 0 0 0 D a 程度まで低分子化する必要がある。

- 15 まず、測定対象のタンパク質が分子内ジスルフィド結合を有する場合、DTT (ジチオスレイトール) 等の還元試薬を含むアセトニトリル等の溶媒中で還元反応を行う。こうすることにより、次の分解反応が効率よく進行する。なお、還元後、チオール基をアルキル化等により保護し、再び酸化するのを抑制することが好ましい。

- 20 次に、トリプシン等のタンパク質加水分解酵素を用いて還元処理されたタンパク質分子の低分子化処理を行う。低分子化は燐酸バッファー等の緩衝液中で行われるため、反応後、トリプシンの除去や脱塩等の処理を行う。その後、タンパク質分子を MALDI-TOFMS 用の基質と混合し、乾燥処理を行う。

- 25 ここで、MALDI-TOFMS 用の基質は、測定対象物質に応じて適宜選択されるが、たとえば、シナピン酸、 α -CHCA (α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸)、2, 5-DHB (2, 5-ジヒドロキシ安息香酸)、2, 5-DHB および DHBs (5-メトキシサリチル酸) の混合物、HABA (2-(4-ヒドロキシフェニルアゾ)安息香酸)、3-HPA (3-ヒド

ロキシピコリン酸)、ジスラノール、THAP (2, 4, 6-トリヒドロキシアセトフェノン)、IAA (トランス-3-インドールアクリル酸)、ピコリン酸、ニコチン酸等を用いることができる。

本実施の形態における分離装置100は、基板上に形成することができ、
5 基板の下流に前処理装置および乾燥装置等を形成しておくことにより、基板をMALDI-TOFMS装置にそのままセットするようにすることもできる。このようにすれば、目的とする特定成分の分離、前処理、乾燥、および構造解析を一枚の基板上で行うことが可能となる。

乾燥後の試料をMALDI-TOFMS装置にセットし、電圧を印加し、
10 たとえば337nmの窒素レーザー光を照射し、MALDI-TOFMS分析を行う。

ここで、本実施形態で用いる質量分析装置について簡単に説明する。図23は、質量分析装置の構成を示す概略図である。図23において、試料台上に乾燥試料が設置される。そして、真空下で乾燥試料に波長337nmの窒素ガスレーザーが照射される。すると、乾燥試料はマトリックスとともに蒸発する。試料台は電極となっており、電圧を印加することにより、気化した試料は真空中を飛行し、リフレクター検知器、リフレクター、およびリニア検知器を含む検出部において検出される。
15

図24は本実施の形態の分離装置を含む質量分析システムのブロック図である。このシステムは、試料1001について、夾雑物がある程度除去する精製1002、不要成分1004を除去する分離1003、分離した試料の前処理1005、前処理後の試料の乾燥1006、の各ステップを実行する手段を備えている。この後、質量分析による同定1007が行われる。これらのステップは、一枚のマイクロチップ1008上で行うことができる。
20
25 ここで、本実施の形態の反応装置は、分離1003のステップに対応している。

このように、本実施の形態の処理フローでは、試料を一枚のマイクロチップ1008上で連続的に処理することにより、微量の成分についても損出が

少ない方法で効率よく確実に同定を行うことが可能となる。

以上、本発明を実施の形態をもとに説明した。この実施の形態は例示であり、それらの各構成要素や各処理プロセスの組合せにいろいろな変形例が可能なこと、またそうした変形例も本発明の範囲にあることは当業者に理解されるところである。

たとえば、上記の実施の形態において、各部屋、または各分流路の長さを異ならせる例を説明したが、各部屋または分流路の長さを一定として、各部屋または分流路に印加する外力の大きさを異ならせるようにしても、以上の実施の形態と同様の効果が得られる。この場合、流路の回収先に近づくにつれて、外力の大きさが小さくなるように設定するのが好ましい。

以上説明したように本発明によれば、試料を、簡単な操作で効率よく分離する分離装置が実現される。本発明によれば、試料を精度よく分離するとともに濃縮して回収することができる。

請 求 の 範 囲

1. 被分離成分を含む試料の移動する流路と、

前記流路中に設けられ、前記被分離成分の逆流を抑制する一または二以上の逆流抑制弁と、

前記逆流抑制弁により区画された複数の室と、

前記被分離成分に外力を付与し前記流路中を移動せしめる外力付与手段と、

を備え、

10 前記外力付与手段は、前記被分離成分に前記流路の進行方向に外力を付与する第一の外力印加パターンと、前記被分離成分に前記流路の進行方向と反対方向に外力を付与する第二の外力印加パターンとを順次繰り返し実行し、前記被分離成分をいずれかの前記室に分画する機能を備えたことを特徴とする分離装置。

15 2. 請求の範囲第1項に記載の分離装置において、

前記流路は、一直線上に延在して形成されたことを特徴とする分離装置。

3. 請求の範囲第1項または第2項に記載の分離装置において、

前記逆流抑制弁は、各前記逆流抑制弁を通過して前記流路の下流側に移動した前記被分離成分の少なくとも一部の逆流を阻止するように形成されたことを特徴とする分離装置。

4. 請求の範囲第1項乃至第3項いずれかに記載の分離装置において、

前記外力付与手段は、前記流路の両端に設けられた複数の電極を含み、前記電極間に印加する電圧の方向を切り替えることにより、前記第一の外力印加パターンおよび前記第二の外力印加パターンを実行する機能を備えていることを特徴とする分離装置。

5. 被分離成分を含む試料の移動する流路と、

前記流路を移動する前記被分離成分を当該流路の試料進行方向において堰き止める堰き止め部と、

隣接する前記堰き止め部によって区画された複数の室と、
前記被分離成分に外力を付与し前記流路中を移動せしめる外力付与手段と、
を備え、

5 前記外力付与手段は、各室の流路の試料進行方向の外力成分がそれぞれ異なる複数の外力印加パターンを順次実行し、前記被分離成分をいずれかの前記室に分画する機能を備えたことを特徴とする分離装置。

6. 請求の範囲第5項に記載の分離装置において、

10 前記外力付与手段は、各前記室における前記被分離成分に印加される外力の大きさが略等しくなるように外力を付与する構成とされたことを特徴とする分離装置。

7. 請求の範囲第5項または第6項に記載の分離装置において、

15 前記外力印加パターンは、前記流路の試料進行方向に沿って、前記外力成分が正となる室と前記外力成分が負となる室とが交互に現れるように外力を付与するパターンであることを特徴とする分離装置。

8. 請求の範囲第5項乃至第7項にいずれかに記載の分離装置において、
前記流路は屈曲形状を有し、前記流路の屈曲箇所を前記堰き止め部とするように形成されたことを特徴とする分離装置。

9. 請求の範囲第8項に記載の分離装置において、

20 前記屈曲箇所は実質的に直角に形成されたことを特徴とする分離装置。

10. 請求の範囲第5項乃至第9項いずれかに記載の分離装置において、
前記各室に分画された前記被分離成分を前記堰き止め部から回収する回収部が設けられ、

25 前記外力付与手段は、前記回収部と前記堰き止め部との間にも外力を付与し、前記試料の分画時には、前記堰き止め部の方向に前記試料が移動するように外力を付与し、前記試料の回収時には前記回収部の方向に前記試料が移動するように外力を付与することを特徴とする分離装置。

11. 請求の範囲第1項乃至第10項いずれかに記載の分離装置において、

前記流路の試料進行方向に沿う前記複数の室の長さが、当該流路の下流側に向かうにつれて長くなっていることを特徴とする分離装置。

1 2. 請求の範囲第1項乃至第1.1項いずれかに記載の分離装置において、
各前記外力印加パターンにおいて、前記流路の試料進行方向に沿って、前
5 記流路の下流側に向かう室ほど小さい外力が印加されるように構成された
ことを特徴とする分離装置。

1 3. 請求の範囲第1項乃至第1.2項いずれかに記載の分離装置において、
各前記被分離成分は、前記外力の付与による移動距離に応じていずれかの
前記室にそれぞれ分画されることを特徴とする分離装置。

10 1 4. 請求の範囲第1項乃至第1.3項いずれかに記載の分離装置において、
前記流路の下流側に設けられた回収部をさらに含み、
前記外力付与手段は、各前記印加パターンにおける、外力を付与する時間
を徐々に長くして、前記回収部から前記被分離成分のフラクションが順次得
られるように構成されたことを特徴とする分離装置。

15 1 5. 請求の範囲第1項乃至第1.4項いずれかに記載の分離装置において、
前記外力付与手段は、各前記外力印加パターンにおける、外力を付与する
時間よりも長い時間、前記流路の進行方向に外力を付与する回収用外力印加
パターンを実行するように構成されており、

当該回収用外力印加パターンの実行により、前記流路の最も下流に位置す
20 る室から被分離成分が回収されるように構成されたことを特徴とする分離
装置。

1 6. 主流路および該主流路に分岐して形成された副流路を有し、被分離
成分を含む試料の移動する流路と、

前記被分離成分に外力を付与し前記流路中を移動せしめる外力付与手段
25 と、
を備え、

前記外力付与手段は、前記流路に対する外力の付与方向が異なる複数の外
力印加パターンを順次実行するように構成されており、

複数の前記外力印加パターンの実行により、被分離成分がいずれかの前記副流路に分画されるように構成されたことを特徴とする分離装置。

17. 請求の範囲第16項に記載の分離装置において、

前記主流路は試料導入口を有し、

5 前記副流路は、前記外力付与手段が前記試料導入口の方向に外力を付与したときに前記被分離成分が導入されるように構成され、前記外力付与手段が前記試料導入口から遠ざかる方向に外力を付与したときに前記被分離成分が前記主流路の方向に移動するように構成されたことを特徴とする分離装置。

10 18. 請求の範囲第16項または第17項に記載の分離装置において、

前記主流路は試料導入口を有し、

前記副流路の長さは、その副流路が前記主流路から分岐する点から前記試料導入口に至る長さに略等しくなることを特徴とする分離装置。

19. 請求の範囲第16項乃至第18項いずれかに記載の分離装置におい

15 て、

前記主流路は試料導入口を有し、

前記副流路の長さは、その副流路が前記主流路から分岐する点から前記試料導入口に至る長さよりも長くなることを特徴とする分離装置。

20. 請求の範囲第16項乃至第19項いずれかに記載の分離装置におい

20 て、

前記副流路が前記主流路から分岐する点の上流側近傍に、逆流抑制弁が設けられたことを特徴とする分離装置。

21. 被分離成分を含む試料の移動する流路と、前記流路に設けられた複数の室と、前記被分離成分に外力を付与し前記流路中を移動せしめる外力付与手段と、を含む分離装置を用いて、

25

前記流路における試料導入位置から遠ざかる方向および近づく方向に順次外力を付与する処理を繰り返すことにより、前記被分離成分をいずれかの前記室に分画することを特徴とする分離方法。

2 2. 請求の範囲第 2 1 項に記載の分離方法において、

各前記被分離成分を、前記外力の付与による移動距離に応じていずれかの前記室にそれぞれ分画することを特徴とする分離方法。

2 3. 請求の範囲第 1 項乃至第 1 5 項いずれかに記載の分離装置を用いて

5 試料中の成分を分離する方法であって、

前記流路に前記試料を導入する工程と、

前記試料が一の前記室において前記流路の下流側に移動するようにいずれかの前記外力印加パターンを実行する第一の工程と、

10 前記試料が前記一の室において前記流路の上流側に移動するようにいずれかの前記外力印加パターンを実行する第二の工程と、

を順次繰り返し行うことを特徴とする分離方法。

2 4. 請求の範囲第 2 3 項に記載の分離方法において、

前記第一の工程における前記外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間は毎回一定であることを特徴とする分離方法。

15 2 5. 請求の範囲第 2 3 項に記載の分離方法において、

前記第一工程における前記外力印加パターンおよび第二の工程における前記外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間を毎回一定とすることを特徴とする分離方法。

20 2 6. 請求の範囲第 2 3 項乃至第 2 5 項いずれかに記載の分離方法において、

前記第二の工程における前記外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間は、前記第一工程における前記外力印加パターンにおいて外力を付与する時間と実質的に同じ時間またはそれ以上の時間であることを特徴とする分離方法。

25 2 7. 請求の範囲第 2 3 項乃至第 2 6 項いずれかに記載の分離方法において、

前記第一の工程と前記第二の工程と、を繰り返し実行した後、再び前記試料を導入する工程を行い、同様の処理を繰り返すことを特徴とする分離方法。

28. 請求の範囲第23項乃至第27項いずれかに記載の分離方法において、

前記第一の工程における前記外力印加パターンおよび第二の工程における前記外力印加パターンにおいて、前記外力を付与する時間を毎回一定として前記第一の工程と前記第二の工程と、を繰り返し実行した後、少なくとも前記第一の工程における前記外力印加パターンにおいて、外力を付与する時間を長くして同様の処理を繰り返すことを特徴とする分離方法。

29. 請求の範囲第23項乃至第28項いずれかに記載の分離方法において、

10 前記第一の工程の前記外力印加パターンにおいて付与される外力の付与時間よりも長い時間、前記試料が前記流路の下流側に移動する方向に外力を付与する回収用外力印加パターンを実行する工程をさらに含むことを特徴とする分離方法。

30. 請求の範囲第16項乃至第20項いずれかに記載の分離装置を用いて試料中の成分を分離する方法であって、

前記流路に前記試料を導入する工程と、

前記主流路において、前記試料が前記流路の下流側に移動するようにいずれかの前記外力印加パターンを実行する第一の工程と、

20 前記主流路において、前記試料が前記流路の上流側に移動するようにいずれかの前記外力印加パターンを実行する第二の工程と、
を順次繰り返し行うことを特徴とする分離方法。

31. 請求の範囲第30項に記載の分離方法において、

前記第一の工程における前記外力印加パターンにおいて、前記外力を付与する時間を毎回一定とすることを特徴とする分離方法。

25 32. 請求の範囲第30項または第31項に記載の分離方法において、

第二の工程における前記外力印加パターンにおいて前記外力を付与する時間は、前記第一の工程における前記外力印加パターンにおいて外力を付与する時間と実質的に同じ時間またはそれ以上の時間であることを特徴とす

る分離方法。

33. 請求の範囲第30項乃至第32項いずれかに記載の分離方法において、

5 前記第一の工程と前記第二の工程と、を繰り返し実行した後、再び前記試料を導入する工程を行い、同様の処理を繰り返すことを特徴とする分離方法。

34. 請求の範囲第21項乃至第33項いずれかに記載の方法を実行させる外力切り替え制御部を含むことを特徴とするシステム。

35. 生体試料を分子サイズまたは性状に応じて分離するとともに、当該試料に対し、酵素消化処理を行うための前処理を行う前処理手段と、

10 前記前処理手段に前処理された試料に対し、酵素消化処理を行う手段と、酵素消化処理された試料を乾燥させる乾燥手段と、

乾燥後の試料を質量分析する質量分析手段と、
を備え、

15 前記前処理手段は、請求の範囲第1項乃至第20項いずれかに記載のマイクロチップを含むことを特徴とする質量分析システム。

Fig.1

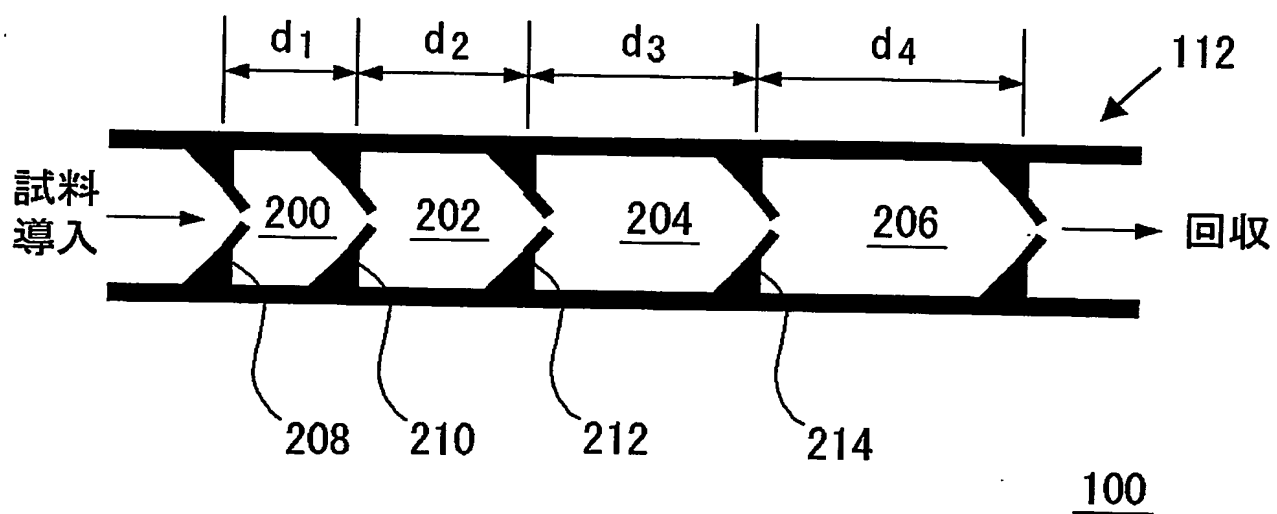


Fig.2

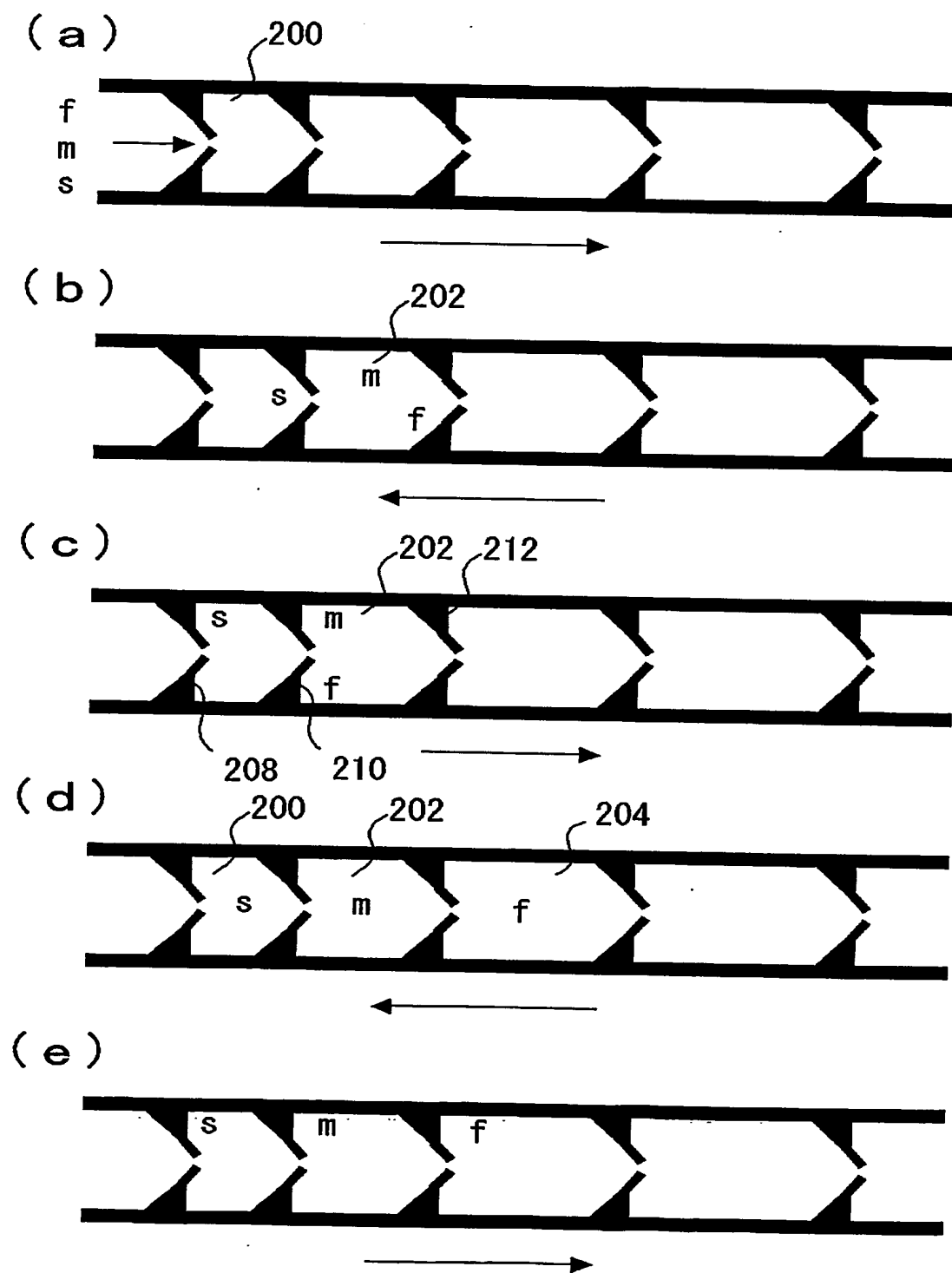


Fig.3

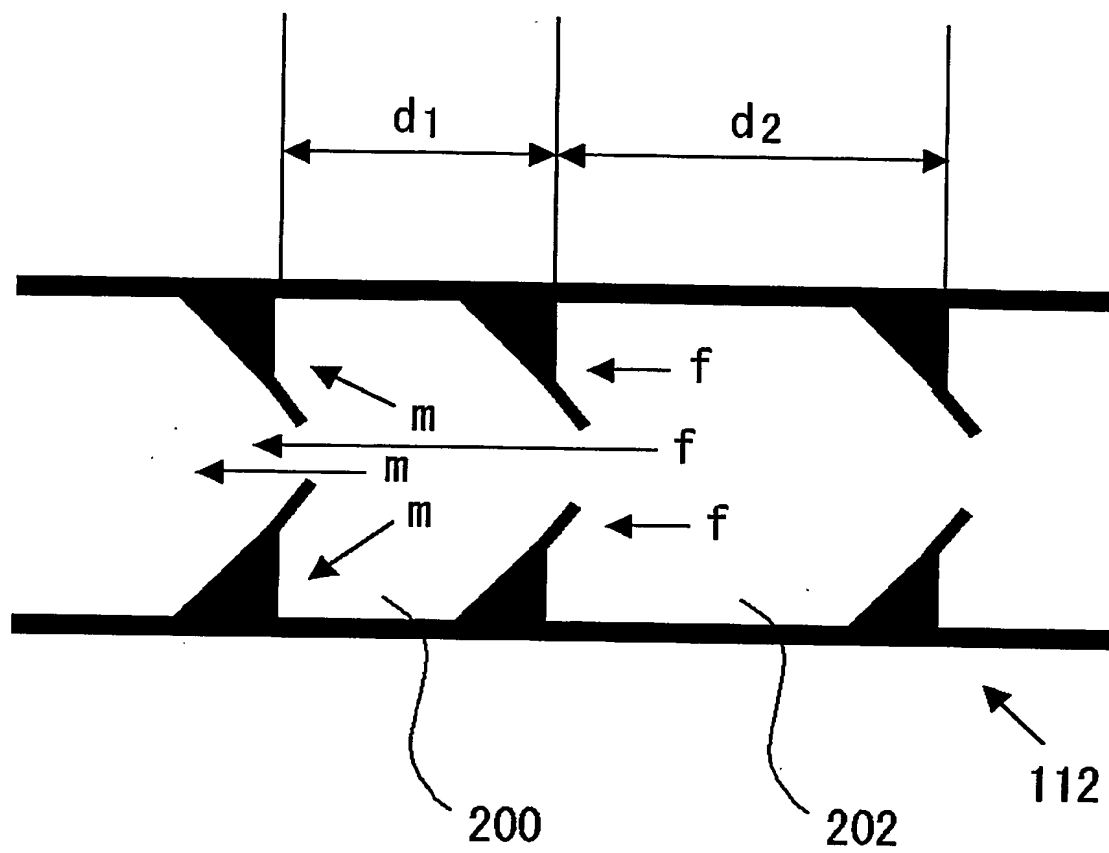


Fig.4

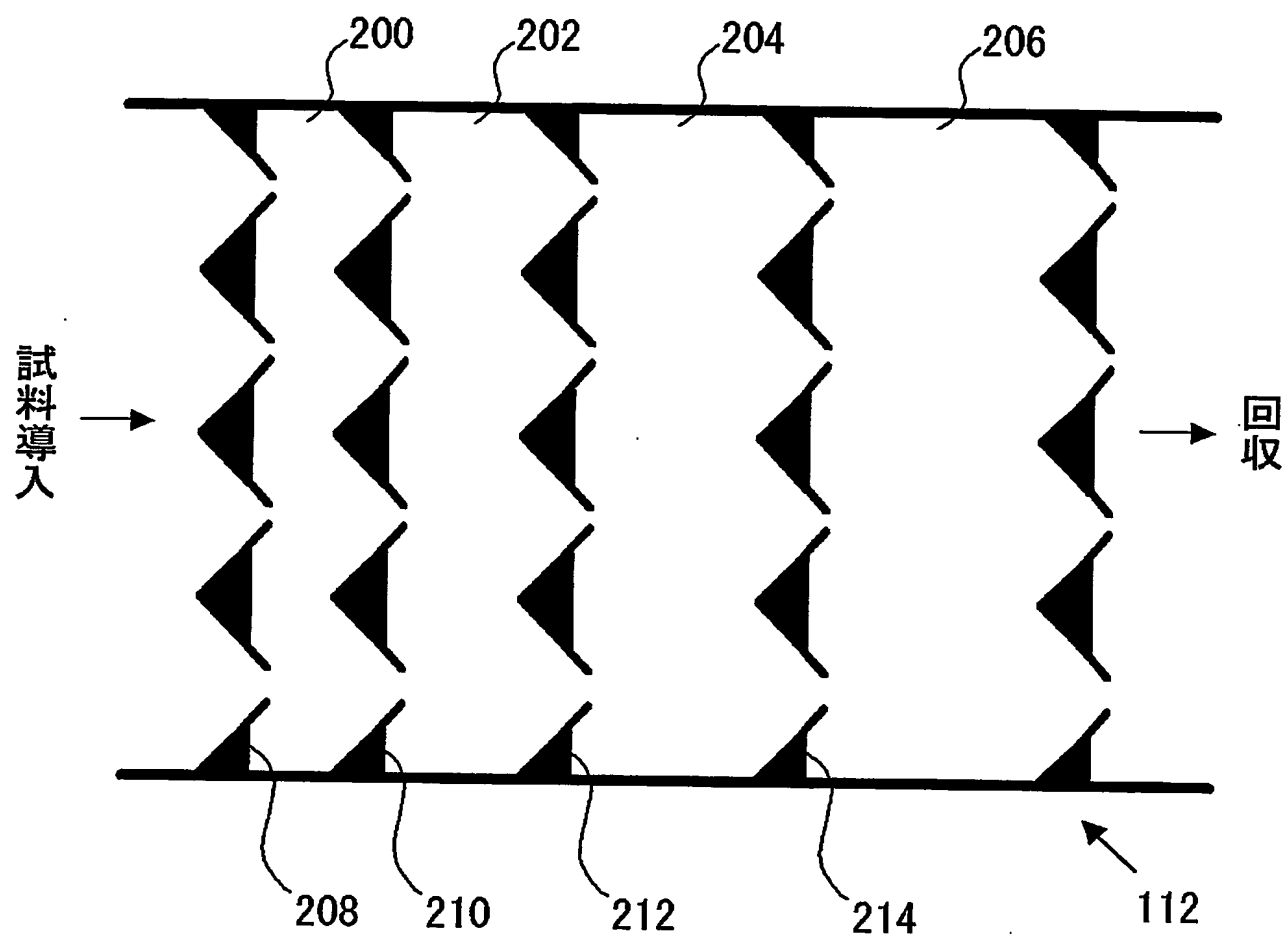


Fig.5

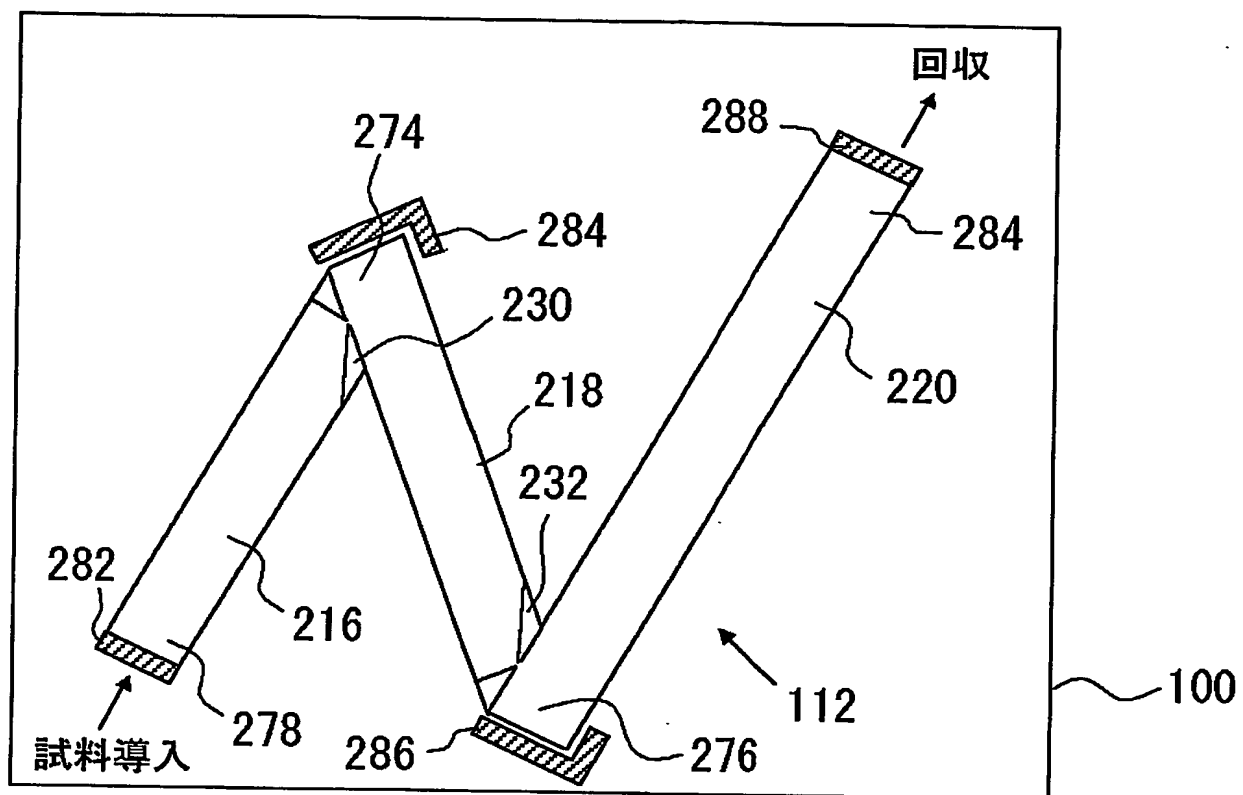


Fig.6

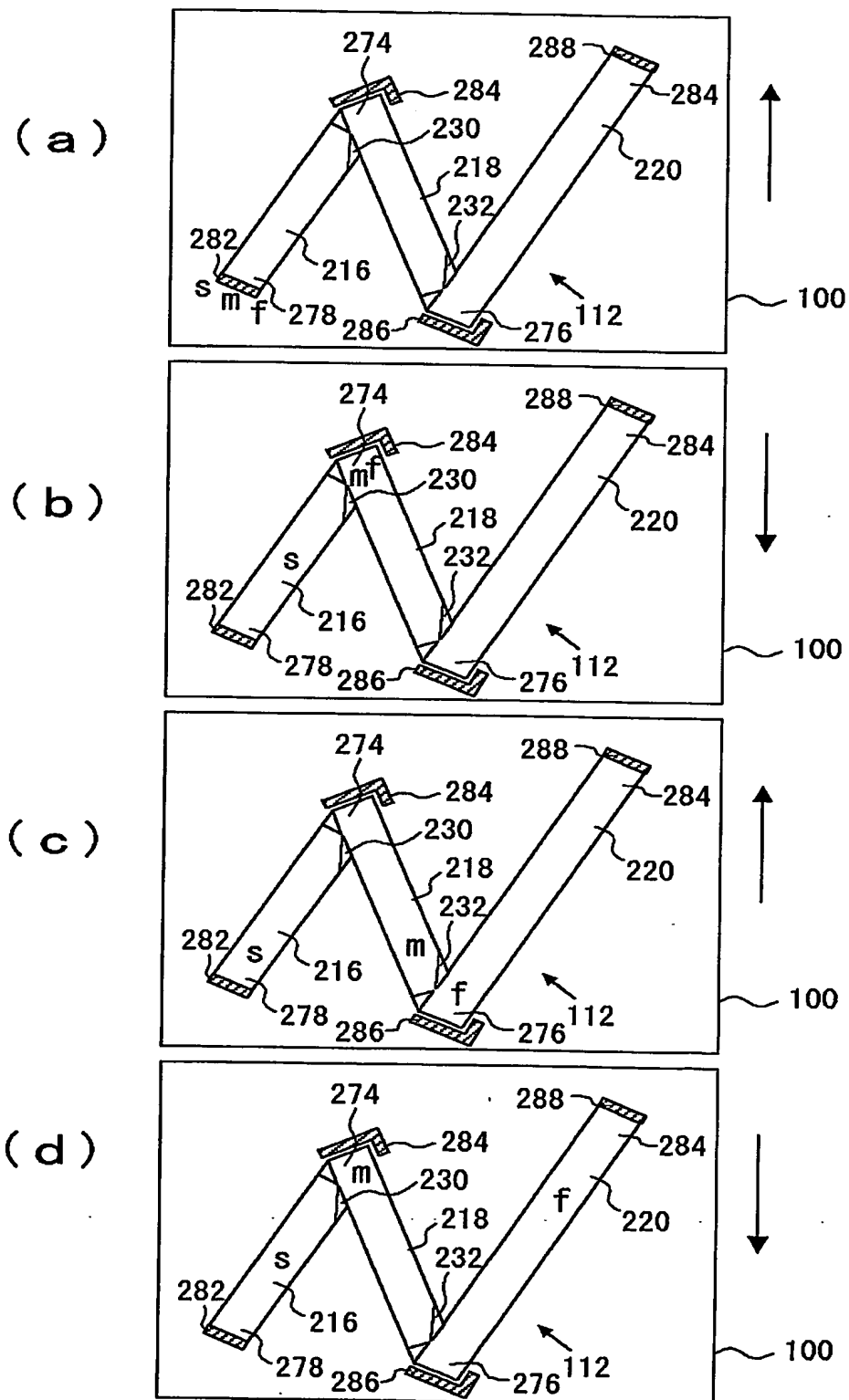


Fig.7

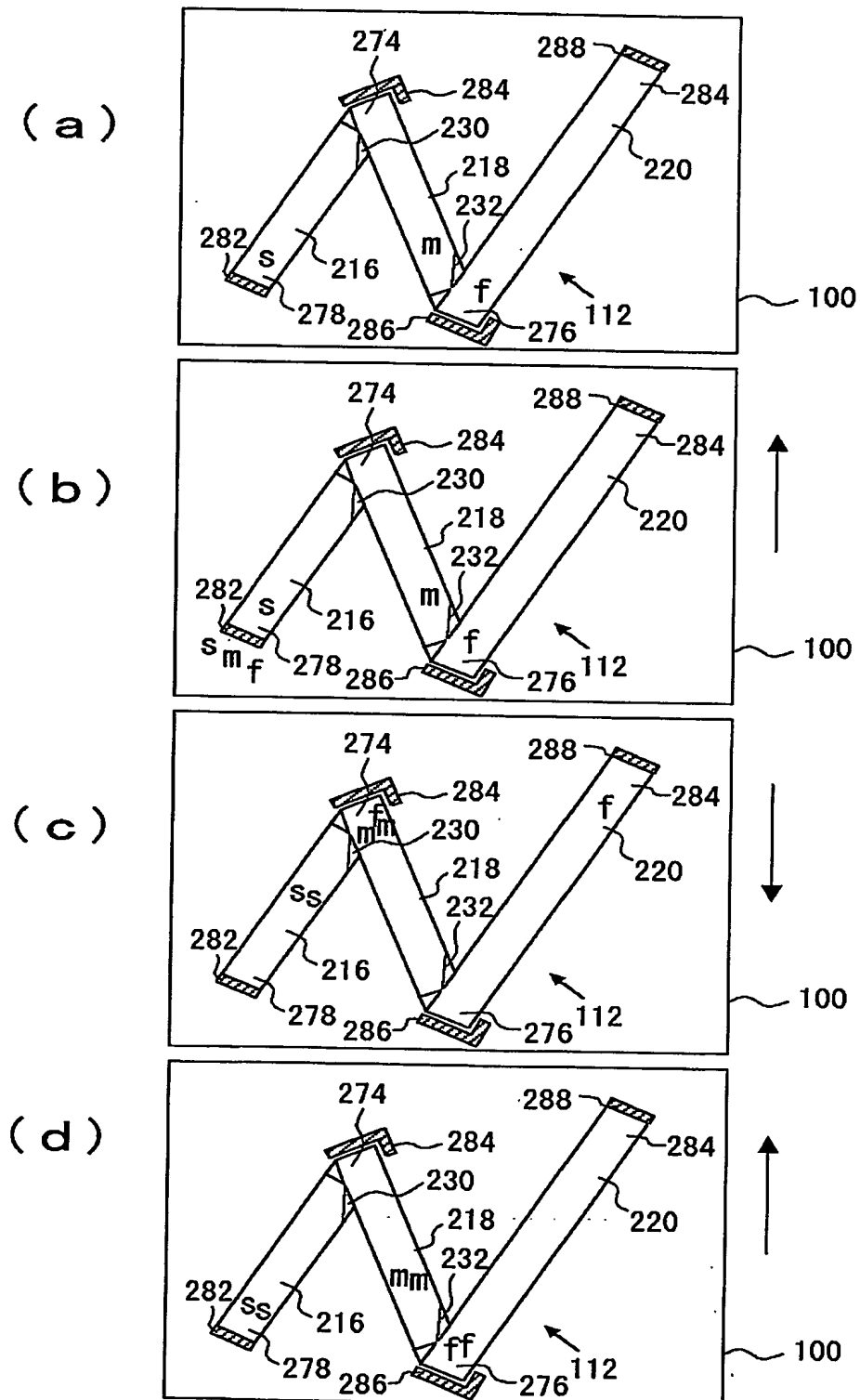


Fig.8

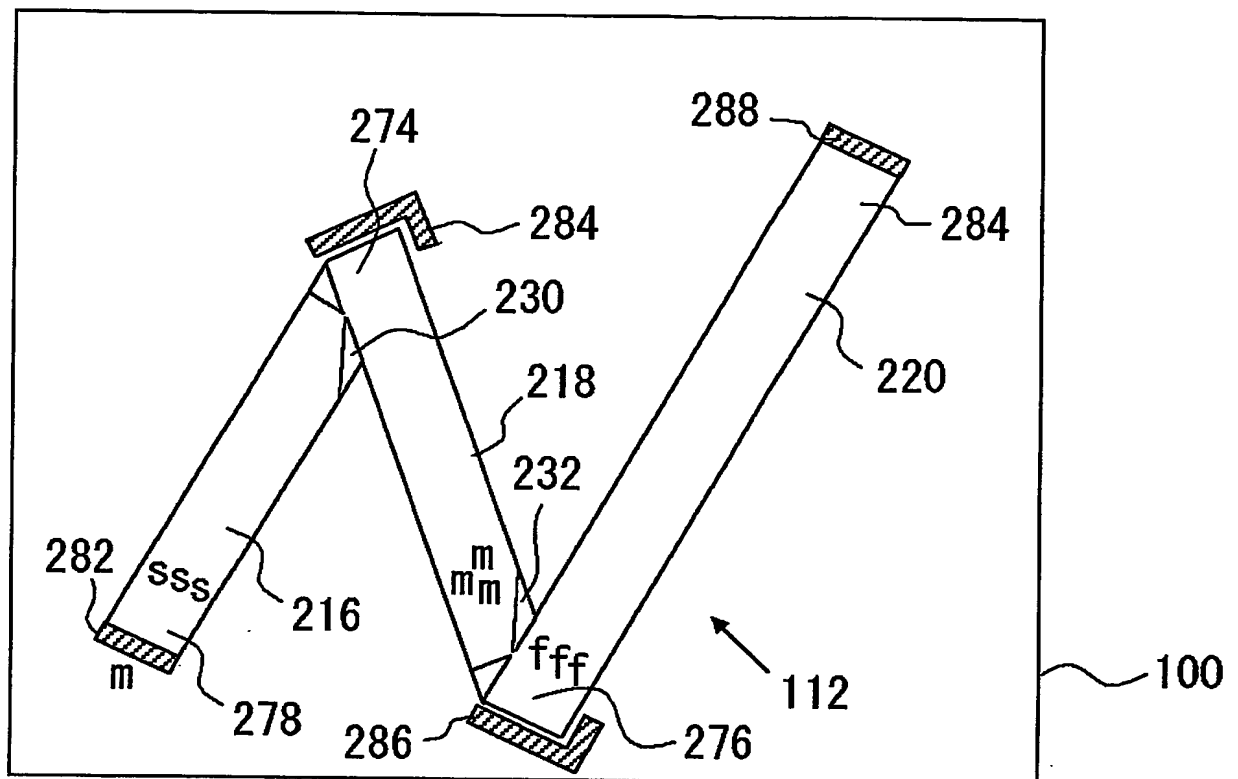


Fig.9

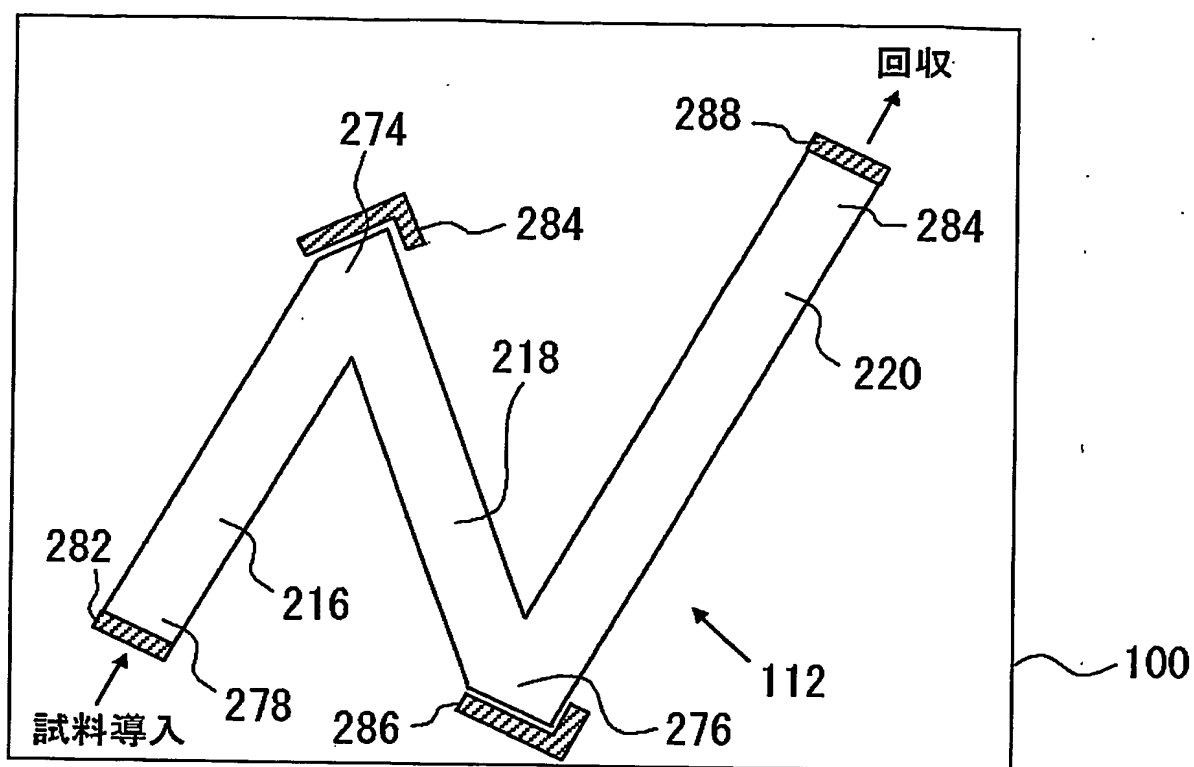


Fig.10

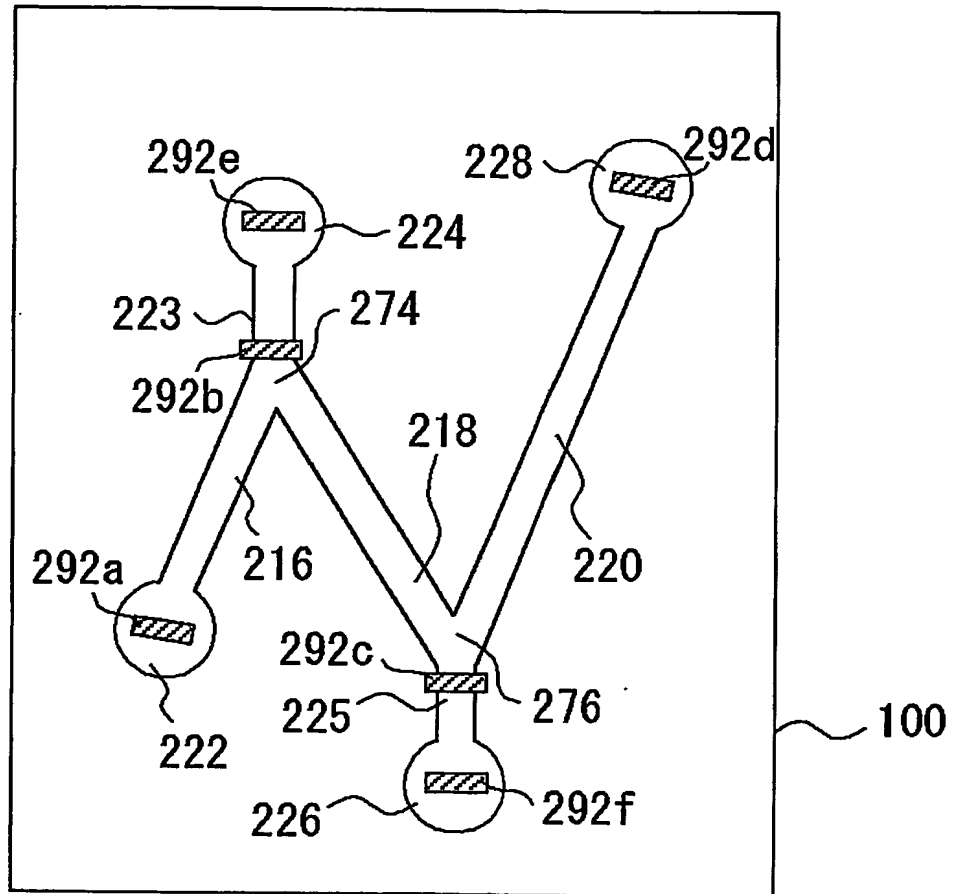


Fig.11

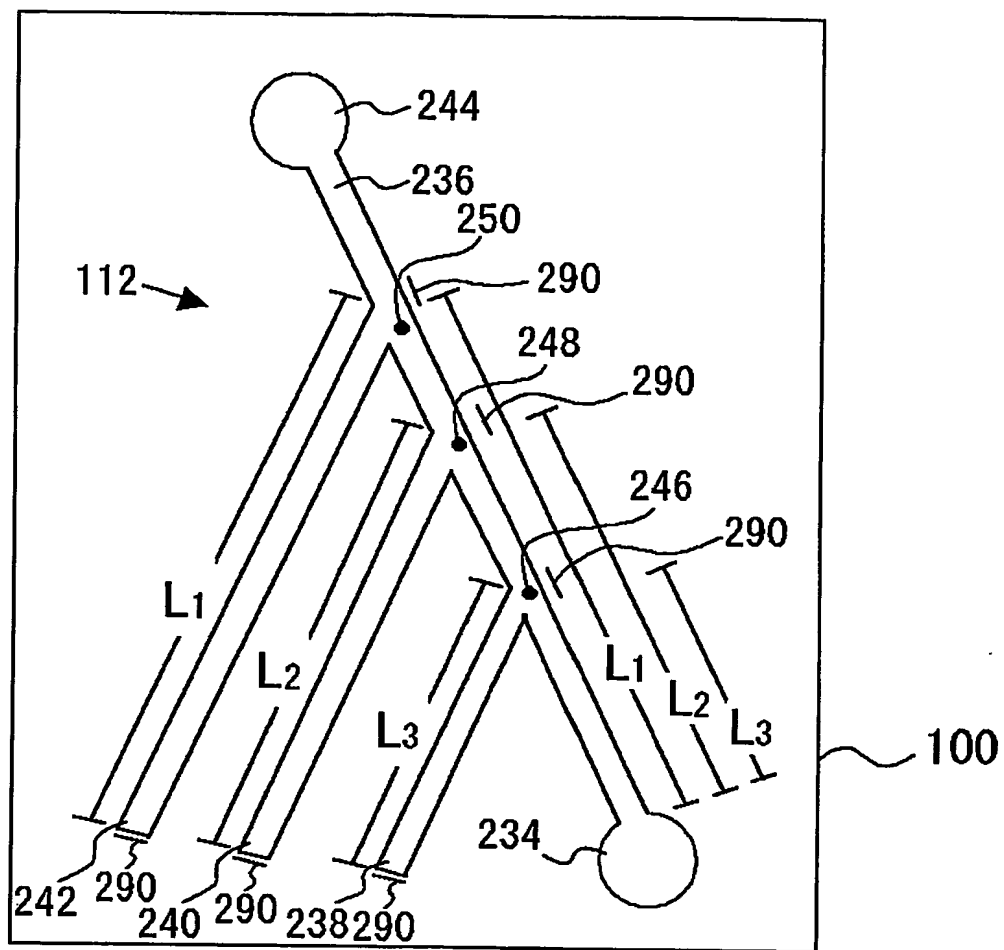


Fig.12

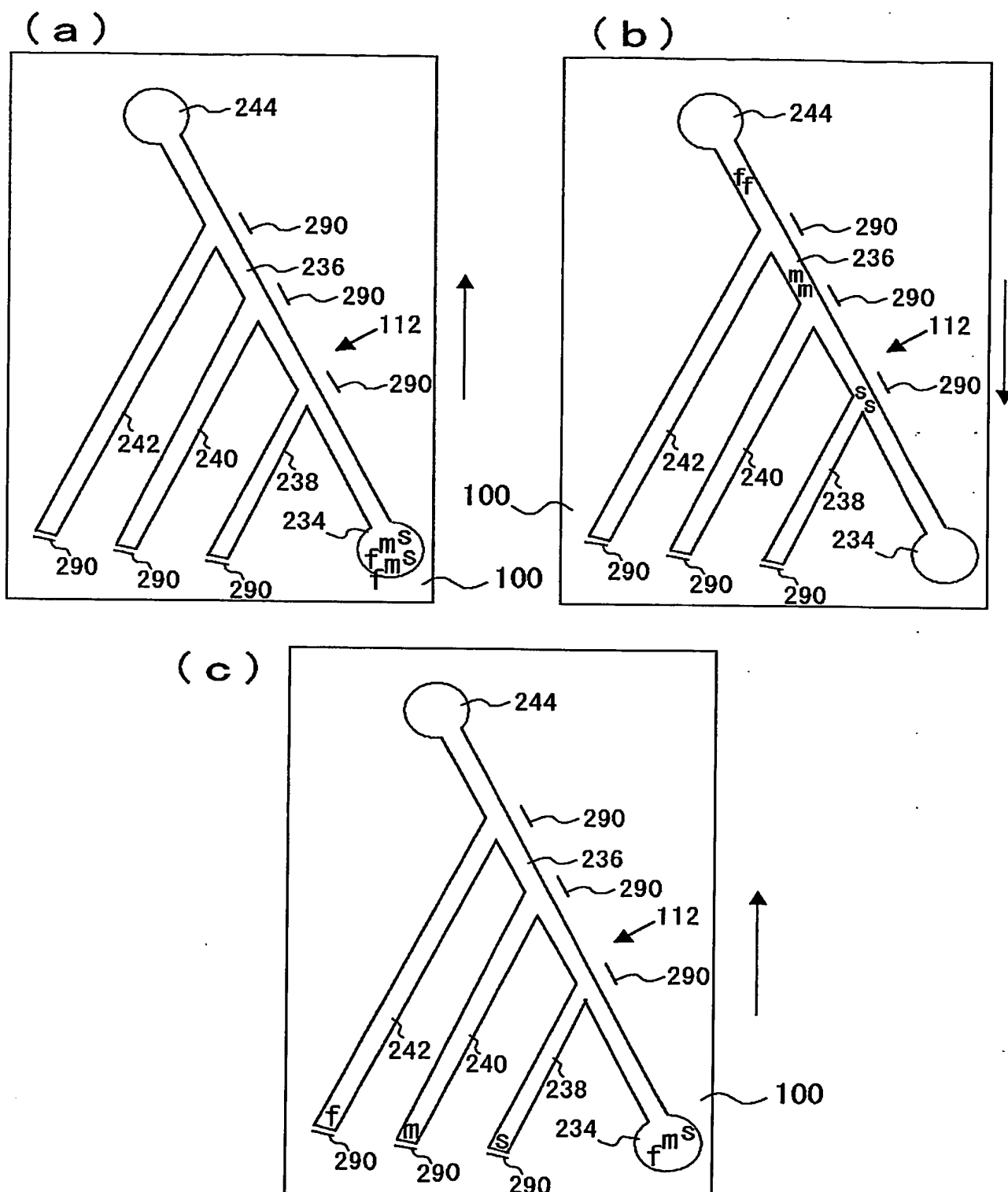


Fig.13

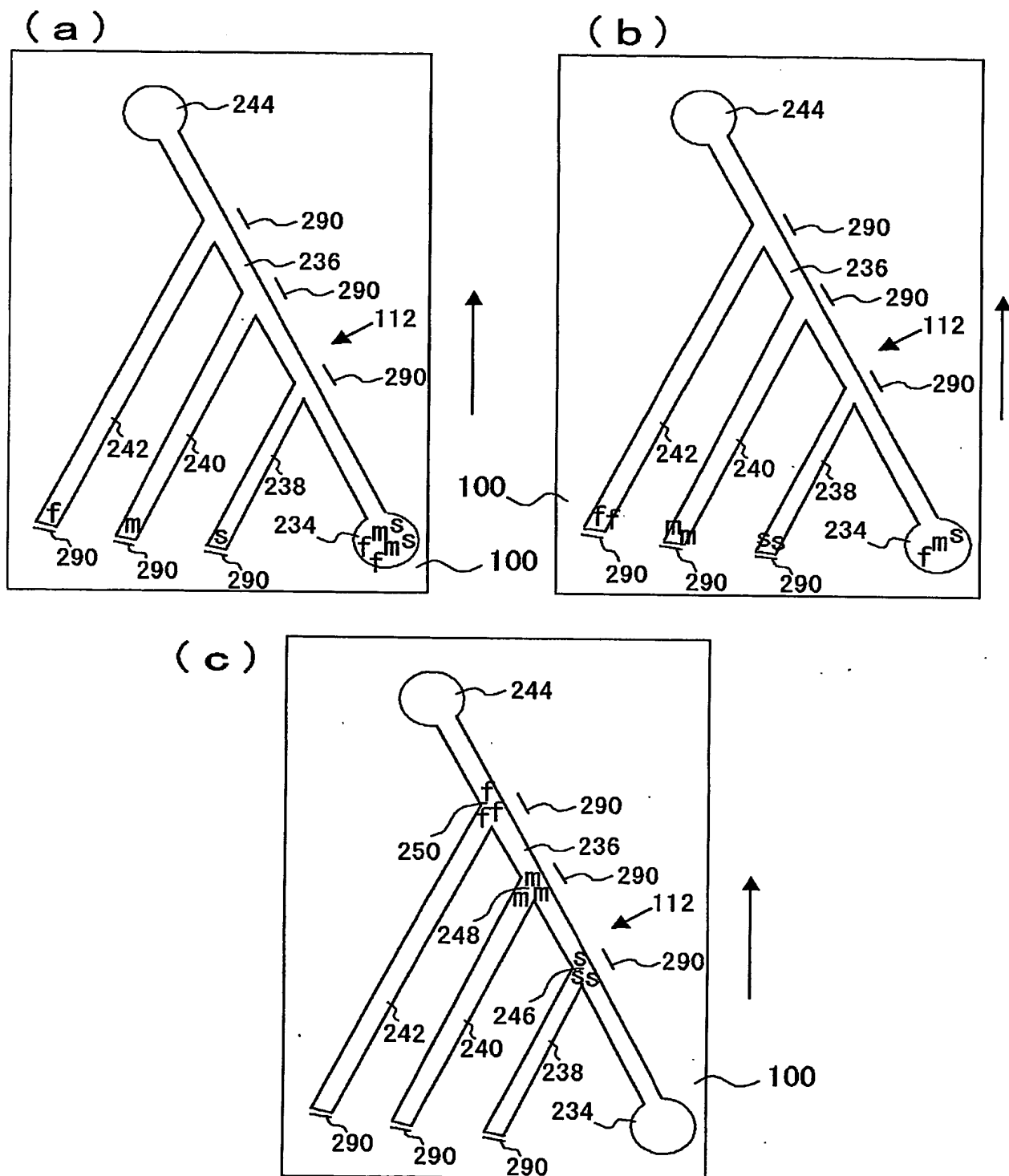


Fig.14

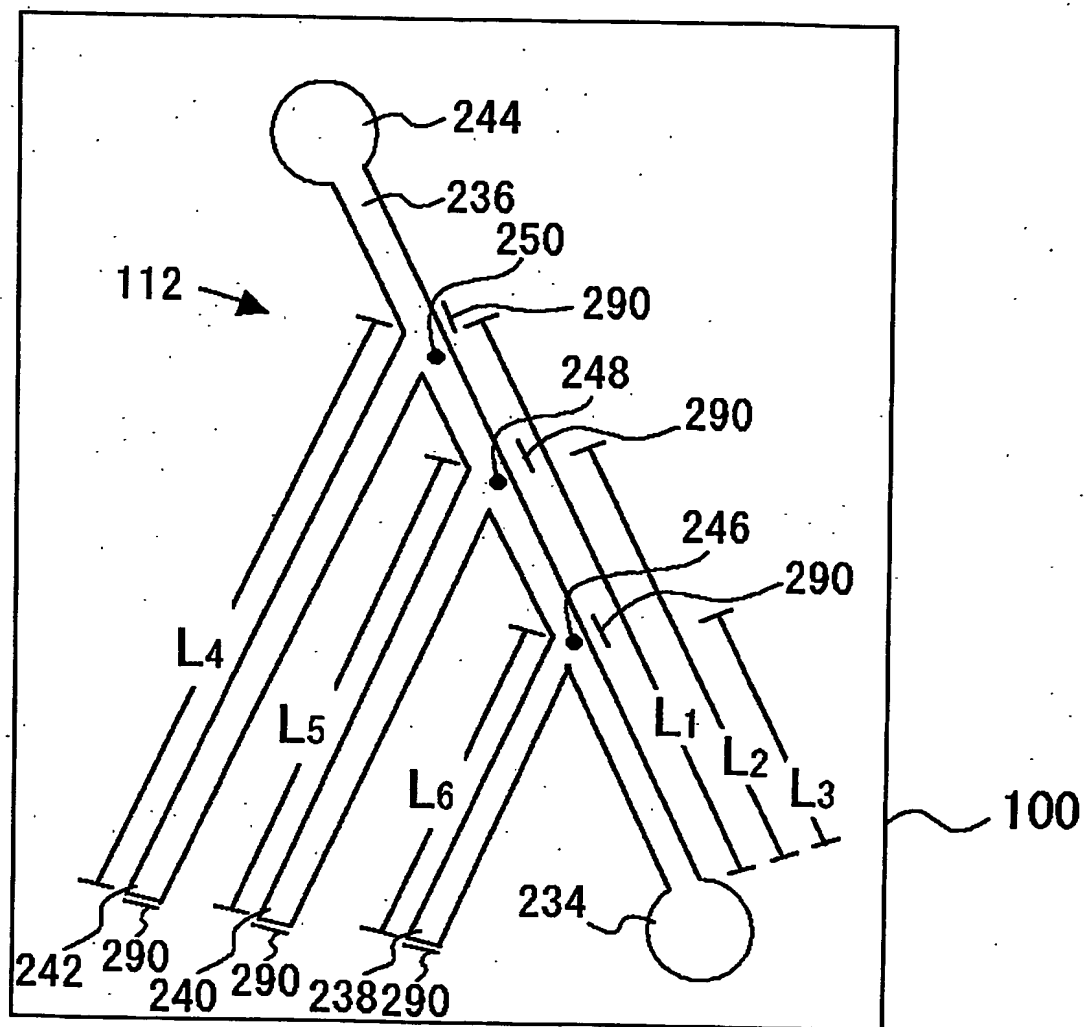


Fig.15

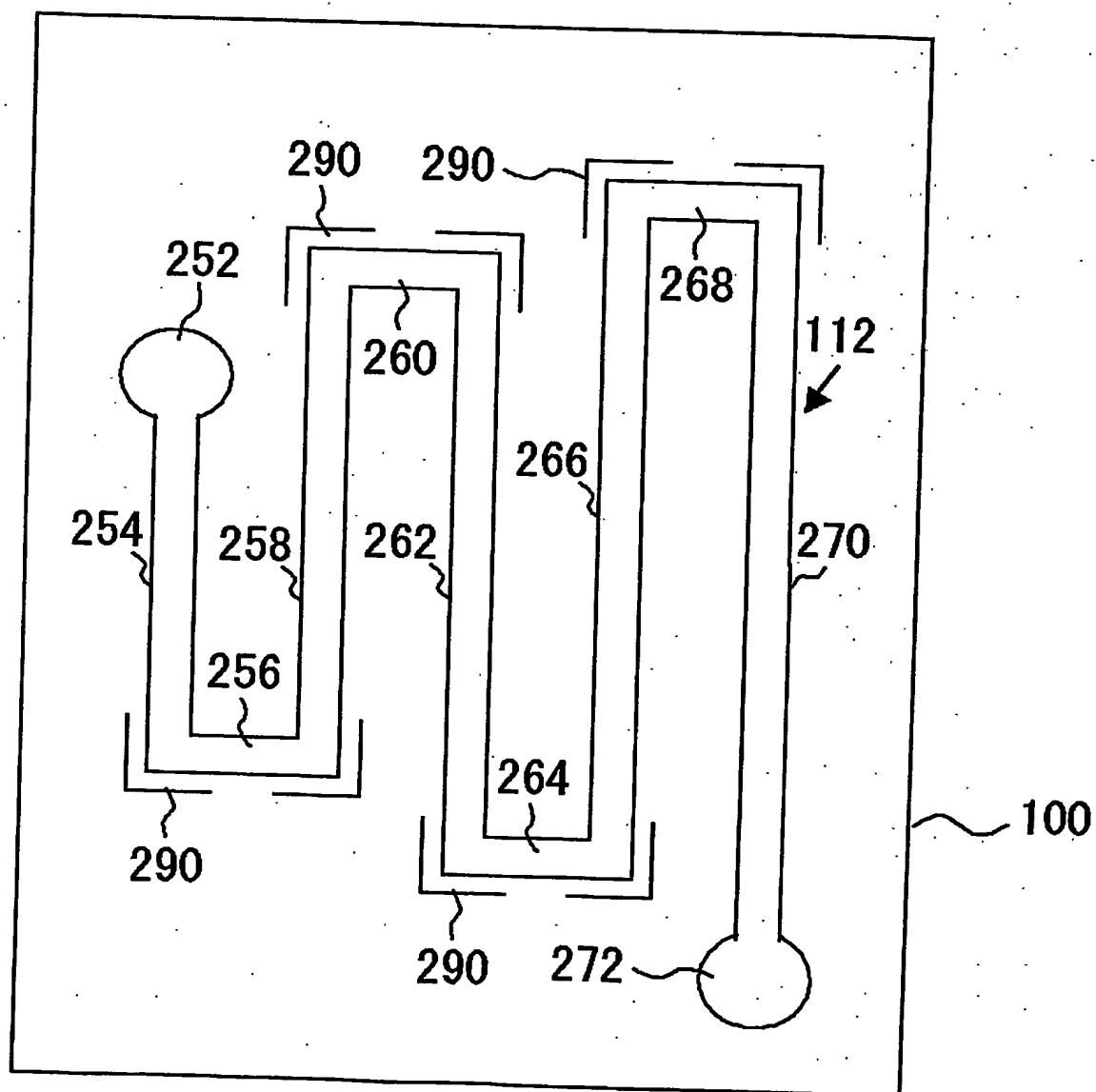


Fig.16

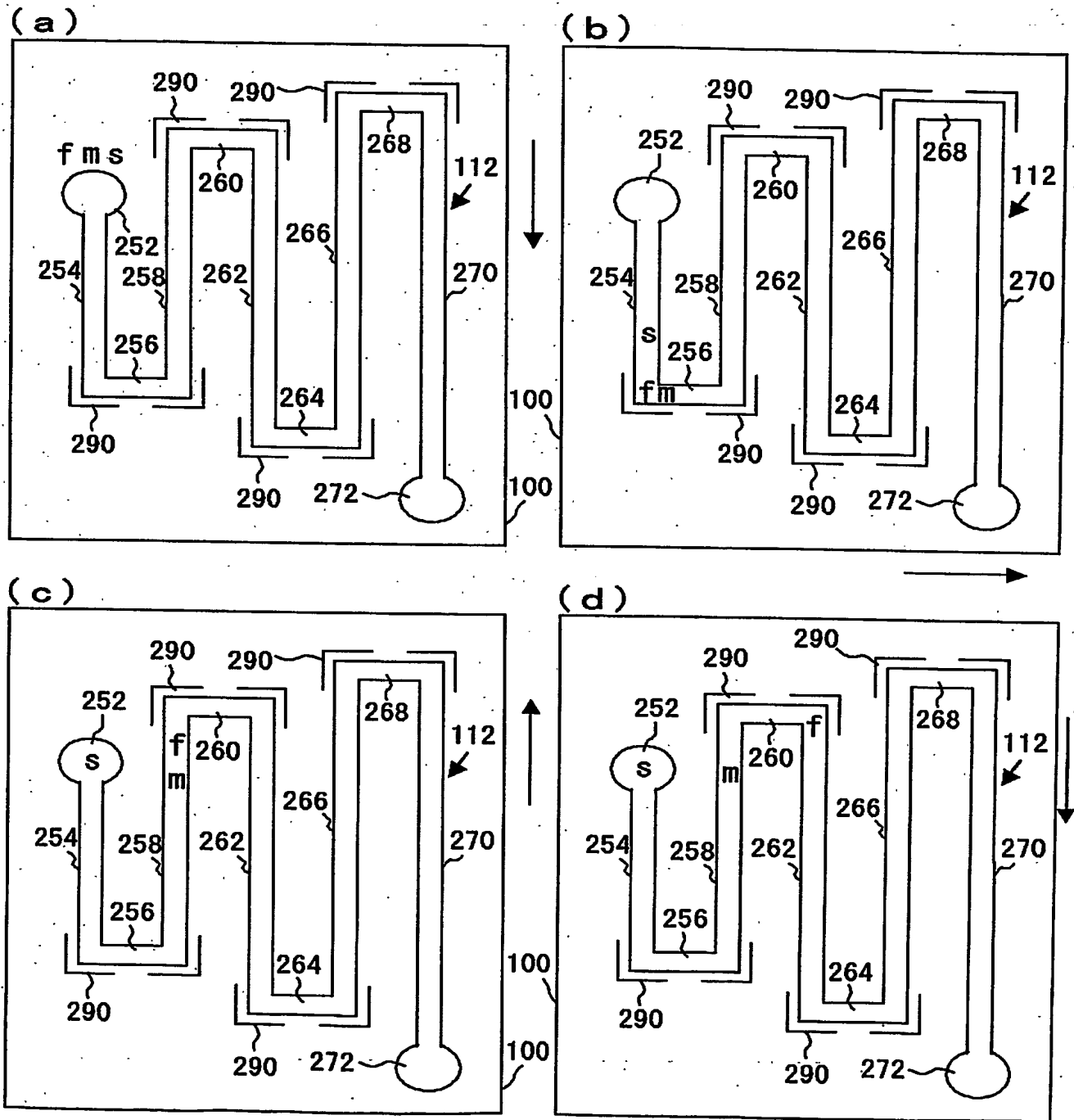
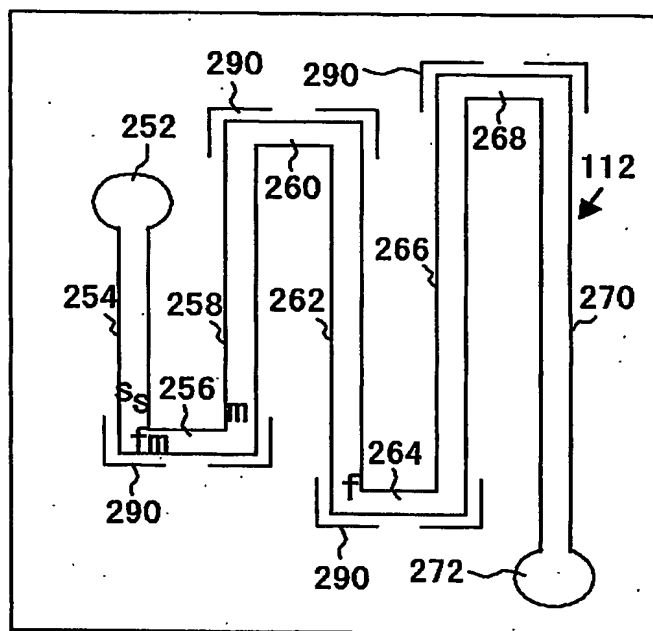


Fig.17

(a)



(b)

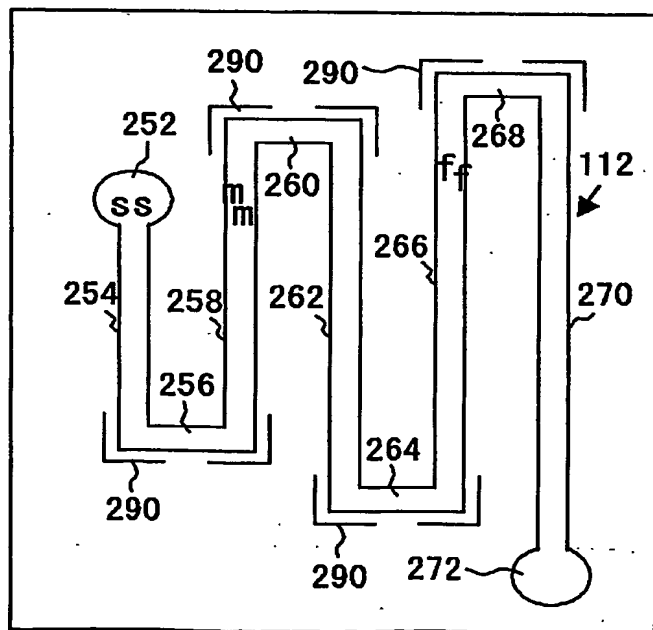


Fig.18

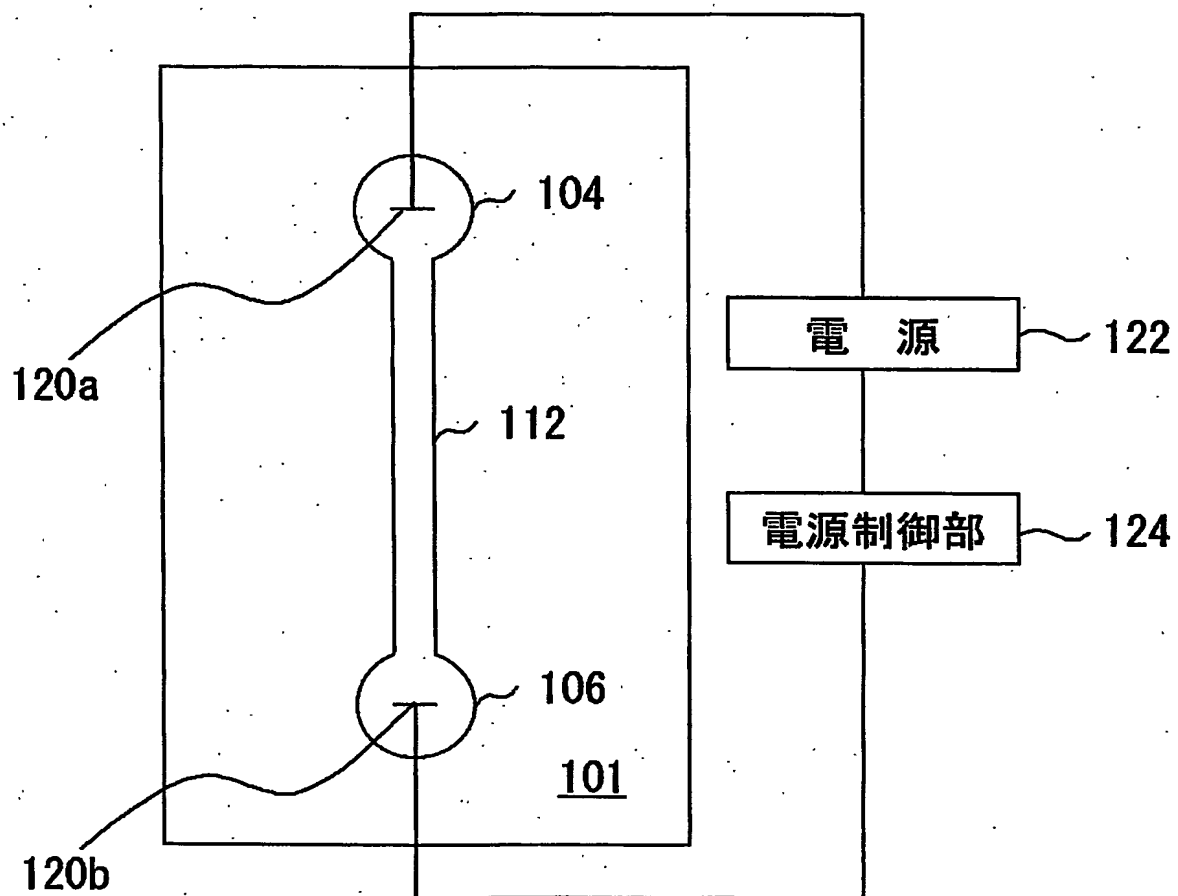
100

Fig.19

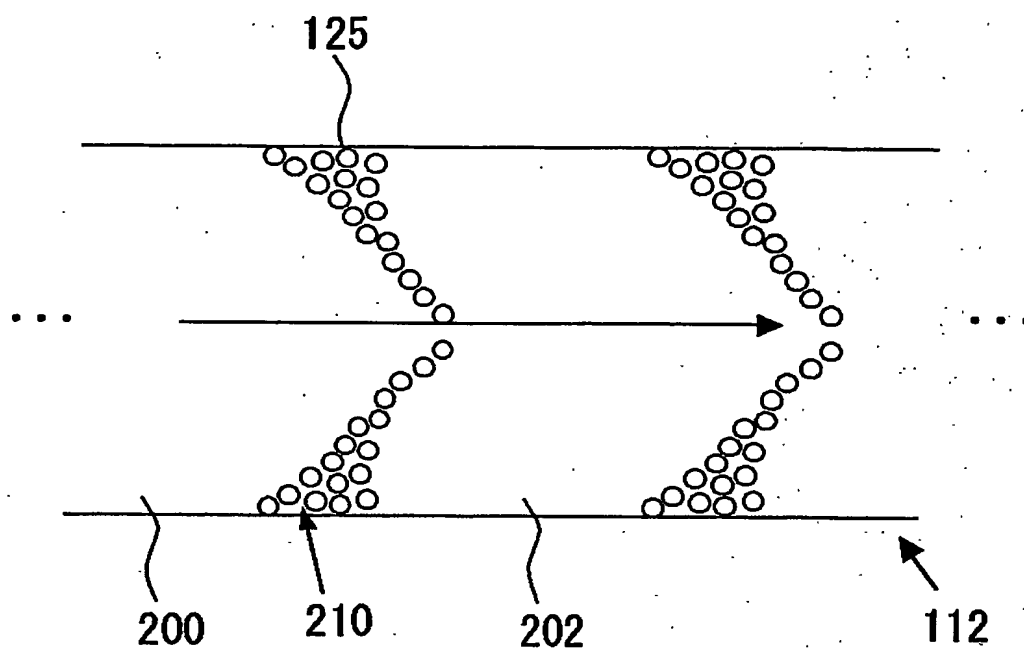


Fig.20

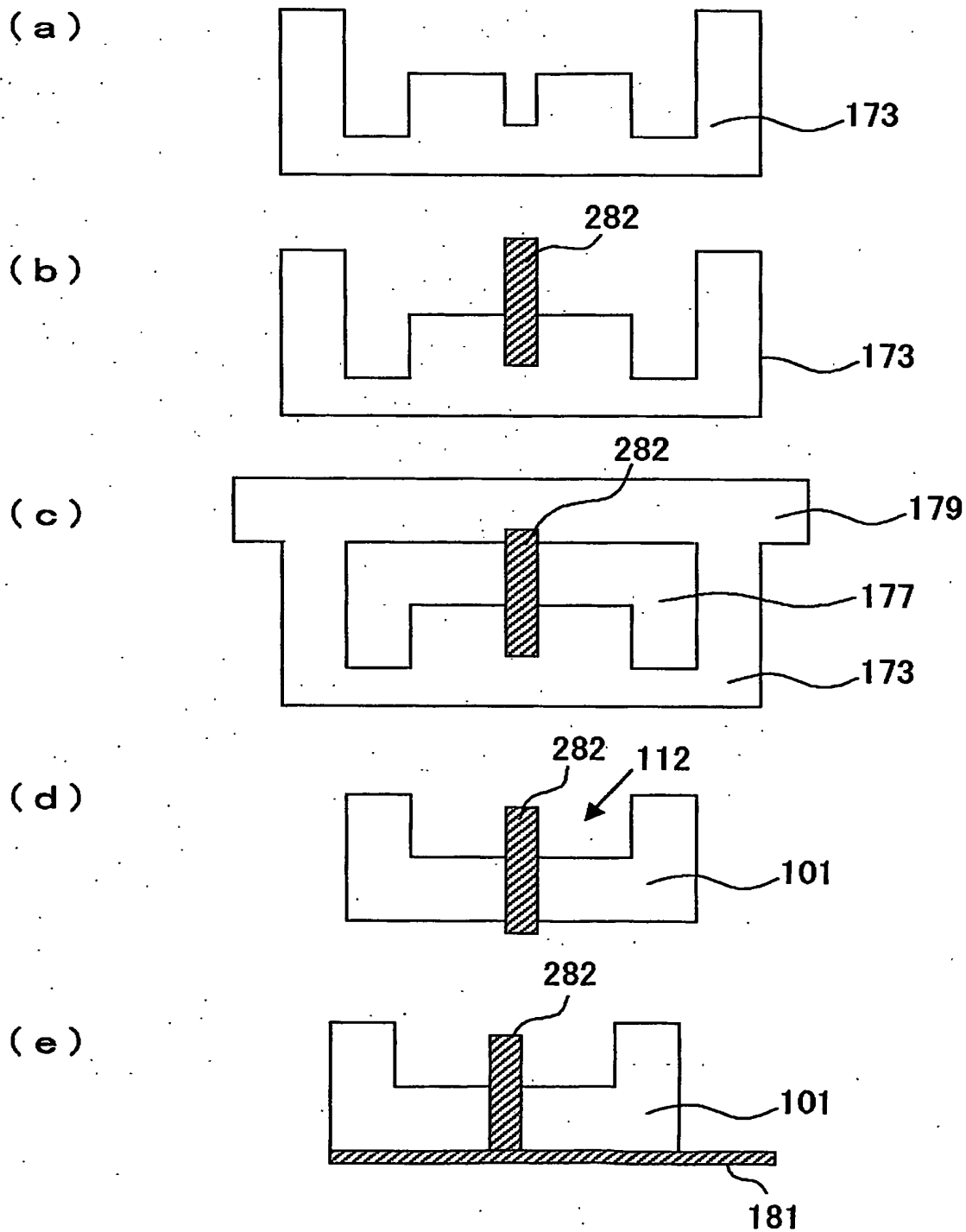


Fig.21

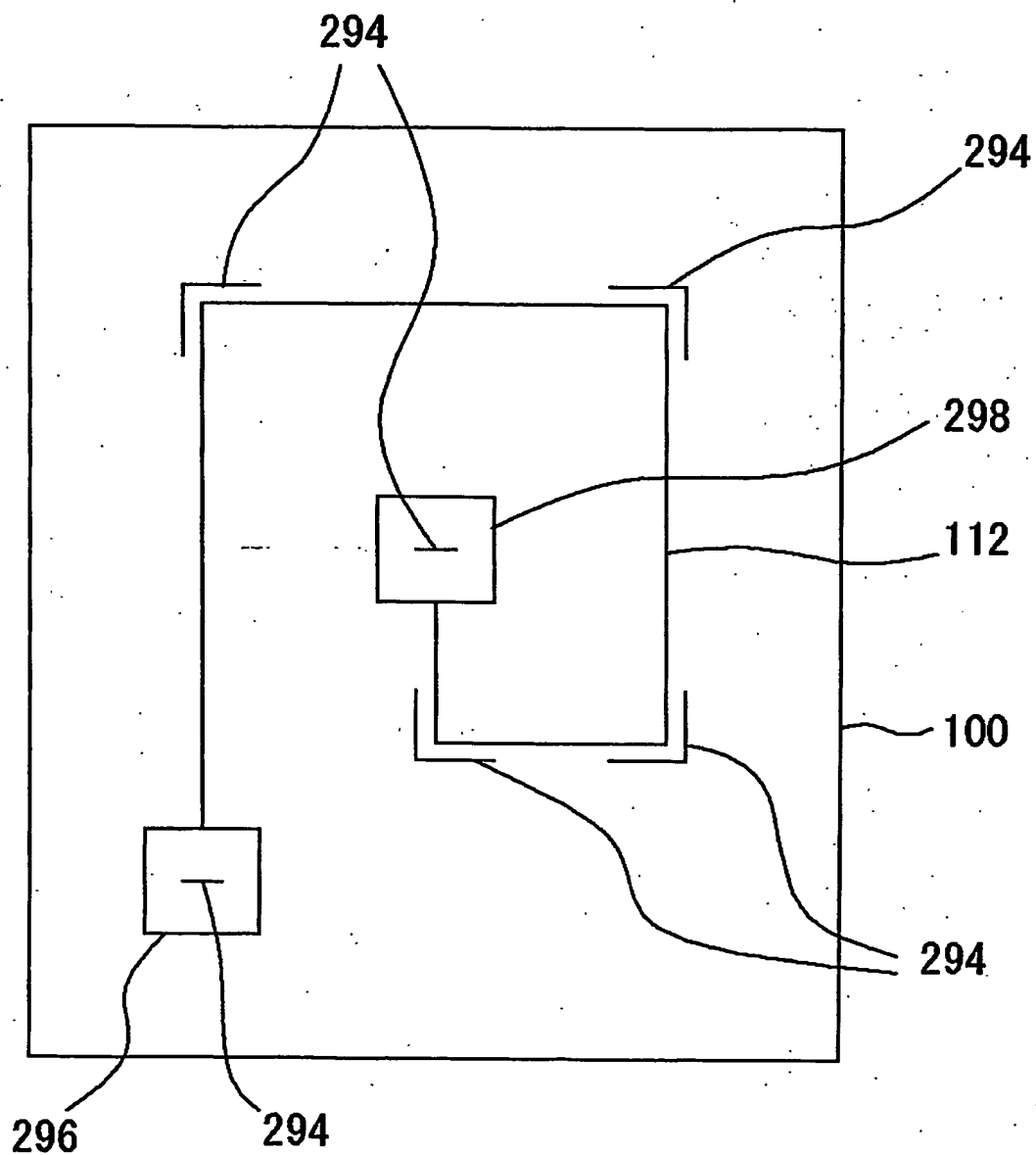


Fig.22

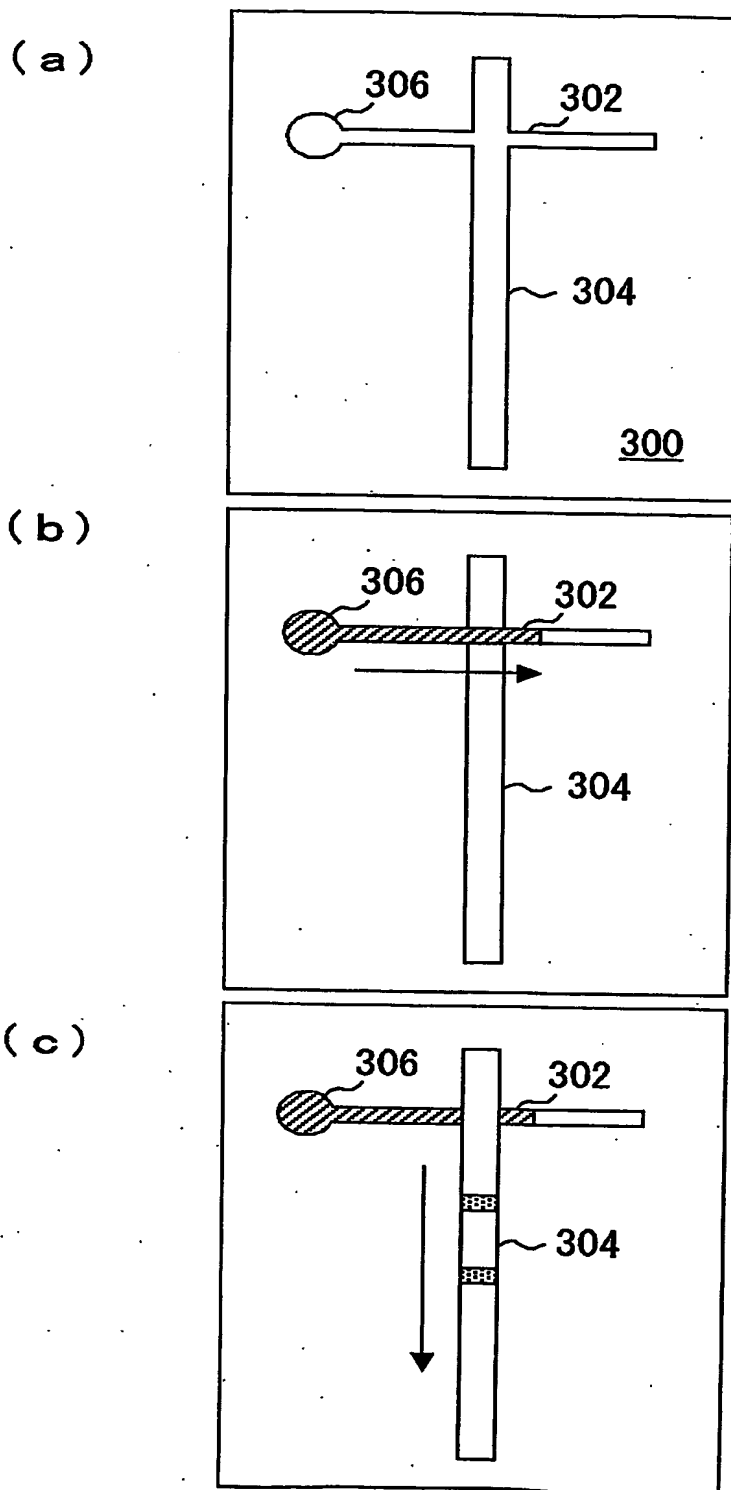


Fig.23

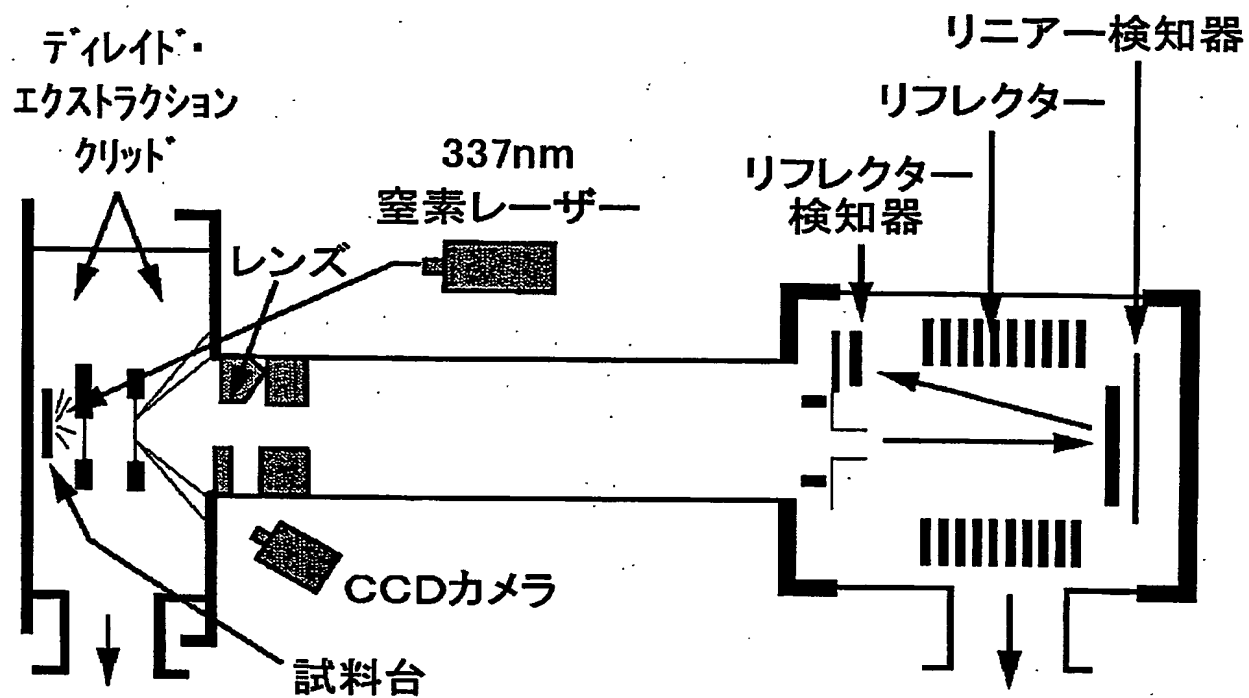


Fig.24

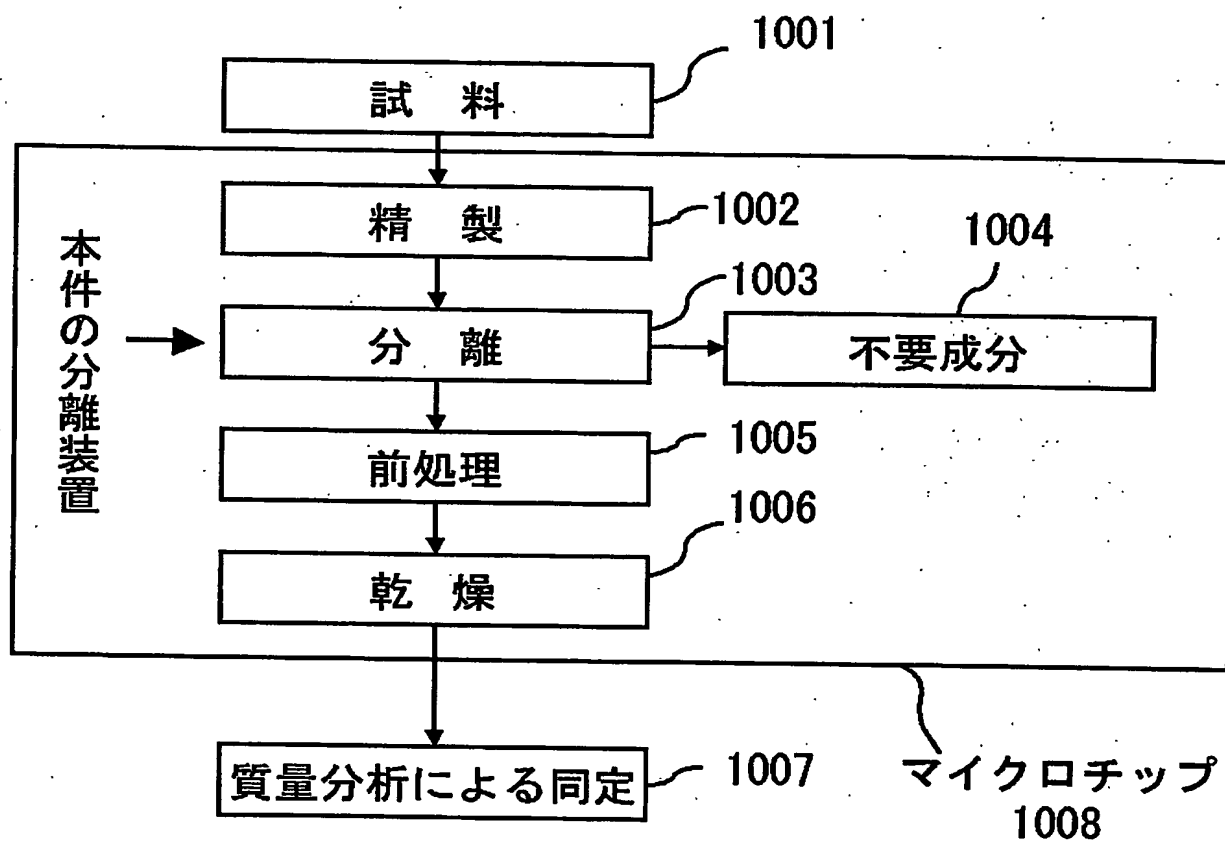


Fig.25

	216	218	220	X
パターン1	+	−	+	−
パターン2	−	+	−	+

Fig.26

	254	256	258	260
パターン1	+	0	-	0
パターン2	0	+	0	+
パターン3	-	0	+	0

Fig.27

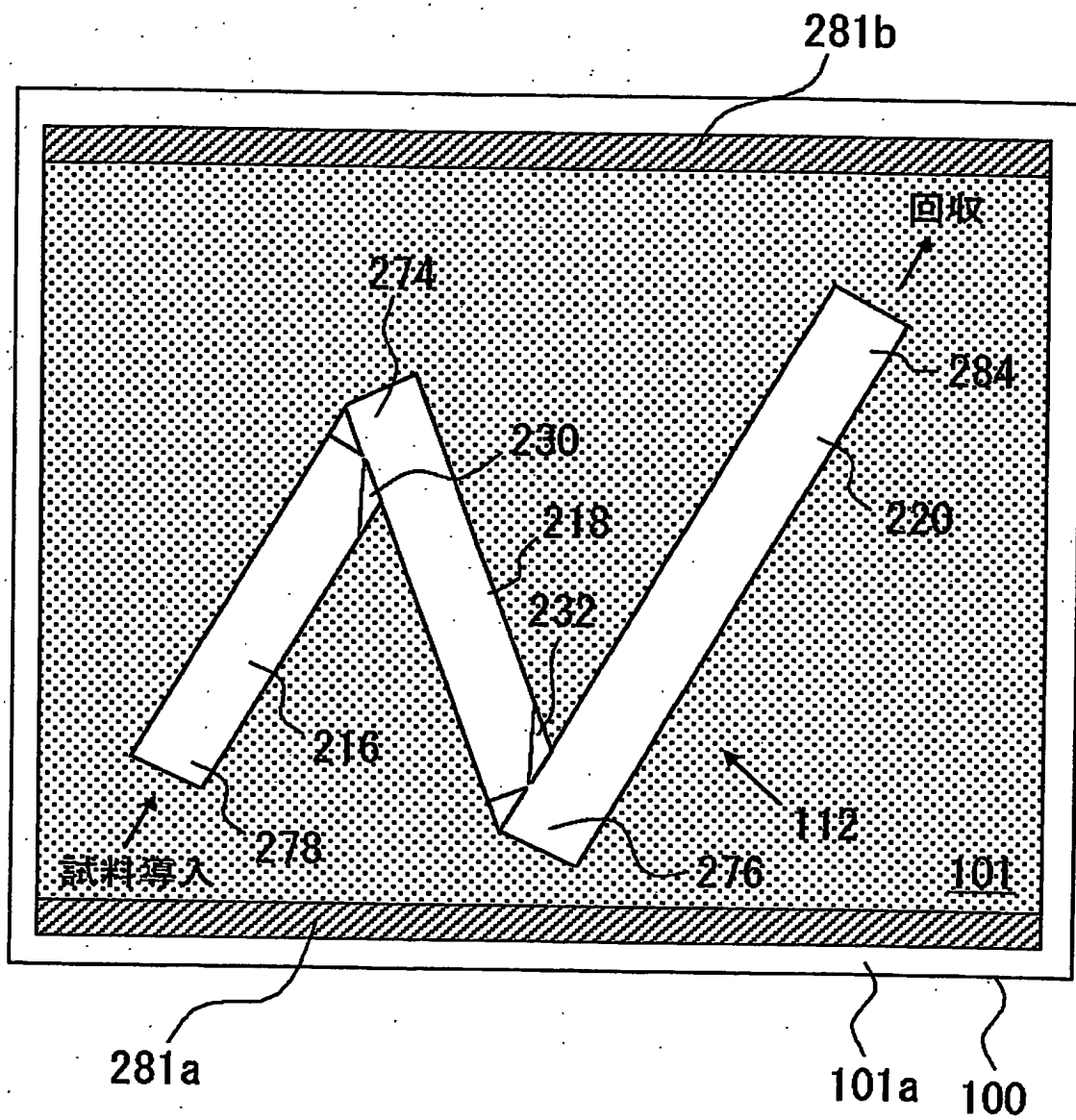


Fig.28

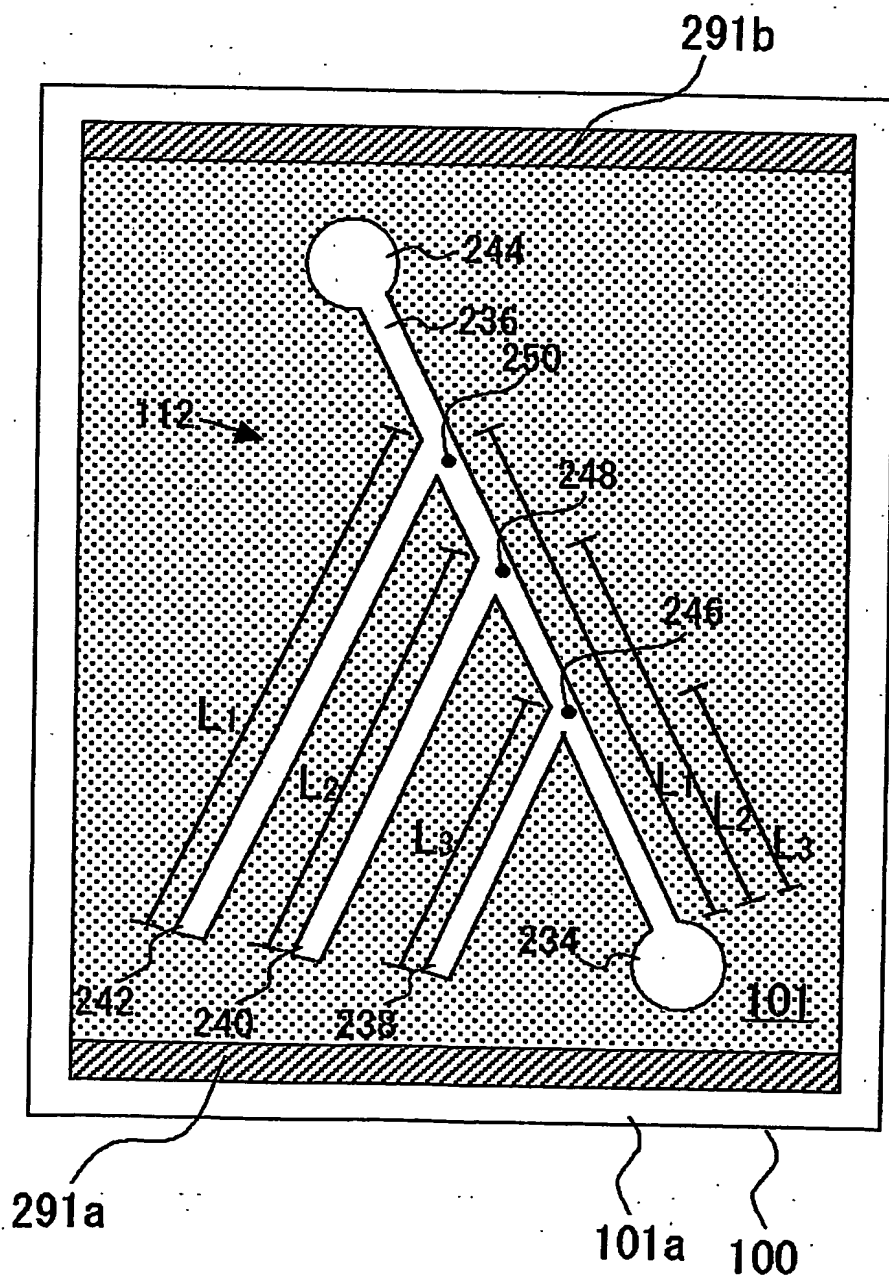
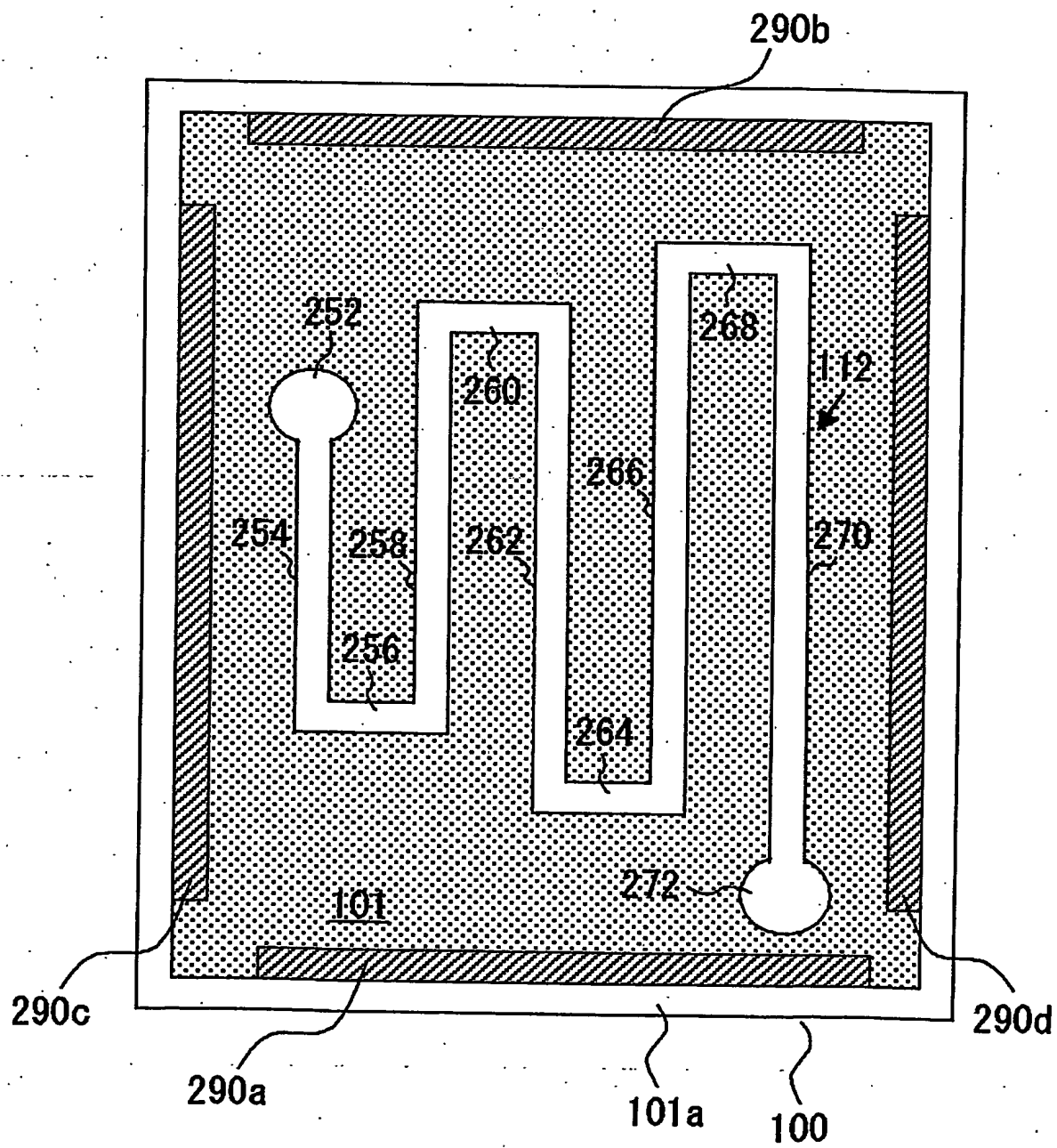


Fig.29



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/15339

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N1/16, 27/26, 27/62, 30/60, 30/72, 33/48, 35/08, 37/00,
B01D57/00, 57/02, B81C1/00, H01J49/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N1/00-1/44, 27/26-27/49, 27/62-27/68, 30/00-30/96,
33/48-33/49, 35/08, 37/00, B01D57/00, 57/02,
B81C1/00-B82B3/00, H01J40/00-49/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2004 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JOIS (JICST FILE)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2002-532715 A (Curagen Corp.), 02 October, 2002 (02.10.02), Full text; Figs. 1 to 22 & WO 00/36407 A1 & EP 972187 A & US 5938904 A1	1-35
A	US 5593565 A (Armand Ajdari), 14 January, 1997 (14.01.97), Full text; Figs. 1 to 10 & EP 645169 A & FR 2710279 A	1-35
A	US 6027623 A (Toyo Technologies, Inc.), 22 February, 2000 (22.02.00), Full text; Figs. 1 to 4 (Family: none)	1-35

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
16 March, 2004 (16.03.04)

Date of mailing of the international search report
30 March, 2004 (30.03.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/15339

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 9-504362 A (British Technology Group USA Inc.), 28 April, 1997 (28.04.97), Page 24, line 13 to page 25, line 5; Fig. 7 & WO 94/029707 A & US 5427663 A & EP 711412 A & US 5837115 A & CA 2164720 A	1-35
A	SANO, BABA, IGUCHI, IIDA, KAWAURA, SAKAMOTO, Dai 63 Kai Extended Abstracts; The Japan Society of Applied Physics, separate Vol.3, 24 September, 2002 (24.09.02), page 1146 (25a-R-8)	1-35
A	M.Baba, T.Sano, N.Iguchi, K.Iida, T.Sakamoto, H.Kawaura, Sixth International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2002), 03 November, 2002 (03.11.02), Vol.2, pages 763 to 765	1-35
E,A	JP 2004-217 A (Jun KIKUCHI), 08 January, 2004 (08.01.04), Full text; Figs. 1 to 18 (Family: none)	1-35

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ G01N1/16, 27/26, 27/62, 30/60, 30/72, 33/48, 35/08, 37/00, B01D57/00, 57/02, B81C1/00, H01J49/26

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ G01N1/00-1/44, 27/26-27/49, 27/62-27/68, 30/00-30/96, 33/48-33/49, 35/08, 37/00, B01D57/00, 57/02, B81C1/00-B82B3/00, H01J40/00-49/48

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2004年
日本国登録実用新案公報	1994-2004年
日本国実用新案登録公報	1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
JOIS(JICSTファイル)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2002-532715 A (キュラゲン コーポレーション) 2002. 10. 02 全文 図1-図22 & WO 00/36407 A1 & EP 972187 A & US 5938904 A1	1-35
A	US 5593565 A (Armand Ajdari) 1997. 01. 14 全文 図1-図10 & EP 645169 A & FR 2710279 A	1-35
A	US 6027623 A (Toyo Technologies, Inc.) 2000. 02. 22 全文 第1-4図 (ファミリーなし)	1-35

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 03. 2004

国際調査報告の発送日

30. 3. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

高見 重雄

2 J 9116

電話番号 03-3581-1101 内線 3251



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 9-504362 A (ブリティッシュ・テクノロジー・グループ・ユーエスエイ・インコーポレーテッド) 1997.04.28 第24頁第13行-第25頁第5行 図7 & WO 94/029707 A & US 5427663 A & EP 711412 A & US 5837115 A & CA 2164720 A	1 - 3 5
A	佐野、馬場、井口、飯田、川浦、阪本、第63回応用物理学会学術講演会講演予稿集 第3分冊 2002年9月24日 p.1146 (25a-R-8)	1 - 3 5
A	M. Baba, T. Sano, N. Iguchi, K. Iida, T. Sakamoto, H. Kawaura, Sixth International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2002) November 3, 2002 Vol. 2 p. 763-765	1 - 3 5
E, A	JP 2004-217 A (菊地純) 2004.01.08 全文 図1-図18 (ファミリーなし)	1 - 3 5